

UNIVERSITE DE GENEVE

FACULTE DES SCIENCES

Section de pharmacie
Pharmacie galénique

Professeur P. BURI

**FACTEURS INFLUENÇANT LA LIBERATION
DE PRINCIPES ACTIFS PEU SOLUBLES
A PARTIR DE CAPSULES
DE GELATINE DURES**

THÈSE

présentée à la Faculté des sciences
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences, mention sciences pharmaceutiques

par

Michèle BOYMOND-GENOUD
de Genève

Thèse No 1869

1978

Genève

Service Rapide Offset

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITE DE GENEVE

FACULTE DES SCIENCES

Section de pharmacie
Pharmacie galénique

Professeur P. BURI

**FACTEURS INFLUENÇANT LA LIBERATION
DE PRINCIPES ACTIFS PEU SOLUBLES
A PARTIR DE CAPSULES
DE GELATINE DURES**

THÈSE

présentée à la Faculté des sciences
de l'Université de Genève

pour obtenir le grade de docteur ès sciences, mention sciences pharmaceutiques

par

Michèle BOYMOND-GENOUD
de Genève

Thèse No 1869

Genève

Service Rapide Offset

1979

La Faculté des sciences, sur le préavis de Messieurs P. BURI, professeur ordinaire et directeur de thèse, E. DOELKER, professeur assistant (Section de Pharmacie Genève) et docteur A. GUMMA, Zyma S.A., Nyon, autorise l'impression de la présente thèse, sans exprimer d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 1er juin 1978

Le Doyen:
Bernard LEVRA

Thèse No 1869



Que le professeur P. Buri trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour l'aide et l'intérêt qu'il a bien voulu me témoigner au cours de ce travail entrepris sous sa direction.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude au Dr G. Eide pour ses nombreux conseils et l'intérêt manifesté pour cette recherche.

Mes remerciements s'adressent également au professeur E. Doelker et au Dr A. Gumma qui ont accepté de faire partie du jury de thèse, ainsi qu'au Dr R. Gurny qui m'a aidée pour l'interprétation mathématique des résultats.

J'aimerais aussi remercier tous mes collègues du laboratoire de pharmacie galénique pour leur soutien et leur collaboration, en particulier Madame D. Mordier pour son appui technique, Madame J. Blanc pour la dactylographie du texte et Monsieur J. P. Vuagniaux pour la réalisation des schémas.

TABLE DES MATIERES

Avant-propos	p. 1
I. Généralités, travaux antérieurs	3
I.1 Historique	3
I.2 Travaux antérieurs	5
I.2.1 Résumé des principaux travaux sur la libération des principes actifs incorporés dans des capsules de gélatine dures	5
I.2.2 Facteurs influençant la libération (Commentaires du tableau 1)	10
I.2.2.1 Dimension des particules	10
I.2.2.2 Porosité	11
I.2.2.3 Adjuvants	11
I.2.2.4 Solubilité du principe actif	14
I.3 Revue des différentes méthodes utilisées pour tester <i>in vitro</i> la vitesse de dissolution de principes actifs incorporés dans des capsules de gélatine dures	15
I.3.1 Remarques générales	15
I.4 Conclusions	18

II.	Essais préliminaires	p. 20
II.1	Généralités sur les capsules de gélatine dures	20
II.1.1	Remplissage des capsules	21
II.1.2	Contrôle des capsules	22
II.1.3	Intérêt des capsules	25
II.2	Partie expérimentale	27
II.2.1	Préparation des capsules	
II.2.2	Détermination du volume total d'une capsule de gélatine dure	29
II.2.3	Choix des principes actifs	30
II.2.4	Détermination des solubilités dans le suc gastrique artificiel	32
II.2.5	Détermination de la densité réelle des principes actifs	32
II.2.6	Description et choix de la méthode de mesure de la vitesse de libération	34
II.2.6.1	Généralités sur les méthodes à "flux continu"	34
II.2.6.2	Description de la cellule	35
II.2.6.3	Mode opératoire	38
II.2.6.4	Calculs et étalonnage	40

III.	Etude <i>in vitro</i> de la vitesse de dissolution	p. 41
III.1	Influence de la grandeur des particules	41
III.1.1	Aspect théorique	41
III.1.2	Partie expérimentale	43
III.1.2.1	Calibrage des principes actifs par tamisage	43
III.1.2.2	Choix des grandeurs de particules	44
III.1.2.3	Détermination de la porosité en fonction des particules choisies	44
III.1.2.4	Remplissage des capsules et caractéristiques	47
III.1.3	Résultats des tests de dissolution et calculs	48
III.1.4	Conclusions et interprétation	52
III.1.5	Interprétation des résultats de l'acétanilide par le test de Scheffé	53
III.2	Influence d'adjuvants hydrophiles introduits dans la capsule	55
III.2.1	Introduction	55
III.2.2	Préparation des capsules	56
III.2.2.1	Choix des adjuvants	56
III.2.2.2	Mélange des poudres	57
III.2.2.3	Choix des formules	58
III.2.2.4	Propriétés physiques des mélanges	59

III.2.3	Résultats et interprétation des tests de dissolution	p. 61
III.2.3.1	Influence du lactose sur la dissolution de la phénacétine	61
III.2.3.2	Influence du lactose sur la dissolution de l'acétanilide	68
III.2.3.3	Influence du maltose sur la dissolution de la phénacétine	72
III.2.3.4	Influence du maltose sur la dissolution de l'acétanilide	75
III.3	Influence d'un agent tensio-actif introduit dans le milieu de dissolution	77
III.3.1	Aspect théorique	77
III.3.2	Partie expérimentale	79
III.3.2.1	Choix du tensio-actif	79
III.3.2.2	Détermination de la tension superficielle du milieu de dissolution	80
III.3.2.3	Choix des formules	82
III.3.3	Résultats des tests de dissolution et calculs	82
III.3.4	Interprétations et conclusions	86
III.4	Influence combinée d'un adjuvant hydrophile dans la capsule et d'un tensio-actif dans le milieu de dissolution	89
III.4.1	Partie expérimentale	90

III.4.1.1	Résultats des tests de dissolution et calculs	p. 90
III.4.1.2	Interprétation et conclusions	93
III.5	Linéarisation du profil de dissolution (RRSW) et interprétation statistique de certains résultats <i>in vitro</i>	94
III.5.1	Aspect théorique	94
III.5.2	Préliminaires	98
III.5.3	Résultats et interprétation	99
III.6	Analyse par régression multiple de l'influence simultanée du lactose et de la granulométrie de la phénacétine et de l'acétanilide sur la libération	110
III.6.1	Aspect théorique	111
III.6.2	Calculs et interprétation des résultats	112
III.6.3	Conclusions	119

IV.	Tests <i>in vivo</i>	p. 120
IV.1	Introduction	120
IV.2	Métabolisme et absorption de la phénacétine	120
IV.3	Revue des différentes méthodes permet- tant le dosage de la phénacétine et de ses métabolites dans le plasma	123
IV.4	Partie expérimentale	125
IV.4.1	Méthode analytique	125
IV.4.2	Protocole expérimental	128
IV.4.2.1	Choix des formules	128
IV.4.2.2	Plan de l'expérience	129
IV.5	Résultats et commentaires	129
IV.5.1	Capsules de phénacétine 63 - 100 μ m sans adjuvant	129
IV.5.2	Capsules de phénacétine 315 - 400 μ m sans adjuvant	131
IV.5.3	Capsules de phénacétine 315 - 400 μ m contenant 20% de lactose	135
IV.6	Conclusions et interprétation statistique des résultats <i>in vivo</i>	138
IV.6.1	Test de Student	138
IV.6.2	Surface sous la courbe	138
V.	Conclusions générales et résumé	141
	Bibliographie	144

AVANT - PROPOS

L'aspect biopharmaceutique des capsules de gélatine dures a suscité jusqu'à présent moins d'intérêt que celui des comprimés. Cette constatation est due probablement au concept solidement établi pendant longtemps, affirmant qu'on pouvait attendre le maximum d'effet d'une substance médicamenteuse introduite sans autre précaution dans une gélule. Or, plusieurs travaux expérimentaux ou études cliniques viennent infirmer aujourd'hui une telle allégation.

Cette recherche se propose essentiellement de mettre en évidence certains paramètres susceptibles de modifier la vitesse de libération *in vitro* de principes actifs peu solubles introduits dans des capsules. En effet, l'évaluation de ces facteurs technologiques devrait fournir des informations utiles pour l'élaboration de ces formes médicamenteuses.

C'est ainsi qu'après avoir mis au point une méthode adéquate pour déterminer la vitesse de dissolution, nous avons porté notre attention sur le rôle de la granulométrie des médicaments choisis pour cette étude, la phénacétine et l'acétanilide.

Dans une étape ultérieure, c'est l'adjonction d'agents hydrophiles qui a fait l'objet de nos investigations. Puis l'influence réciproque de la taille des particules et des adjuvants

tels que le lactose et le maltose fut testée expérimentalement et les résultats soumis à une analyse mathématique, ceci avec ou sans tensio-actif dans le milieu de dissolution.

Enfin, des essais *in vivo* sur une série de volontaires, effectués comme complément à cette étude, ont montré dans quelle mesure les effets constatés *in vitro* se retrouvaient au niveau de la vitesse d'absorption.

I. Généralités, travaux antérieurs

I.1 Historique

C'est en France que l'on voit apparaître pour la première fois des capsules de gélatine dures. En 1833, *Mothes*¹ prépara la première; il remplit un petit sac en cuir avec du mercure et l'immergea dans une solution de gélatine chaude concentrée. Autour du sac, se forma une enveloppe de gélatine qu'il détacha, sécha et remplit avec le médicament. Son procédé fut breveté en 1834.

En Angleterre, on commença à utiliser les capsules dès 1847. Peu à peu furent développés de petits appareils pour leur fabrication et leur remplissage manuel. Dès 1920, les machines s'automatisent et aujourd'hui les modèles actuels peuvent produire plusieurs centaines de milliers de capsules par jour². Bien que depuis cette date, l'emploi des capsules soit extrêmement répandu, il faut attendre les années 1965-1968³⁻⁵ pour trouver les premières études concernant la disponibilité des médicaments à partir de cette forme galénique. Si cette dernière a suscité moins d'intérêt que les comprimés par exemple, c'est certainement à cause de son apparente simplicité. Pendant longtemps, on donna très peu d'importance à "l'enveloppe gélatineuse" et on ne considérait que les propriétés de la poudre seule, sans s'occuper du rôle que pouvait jouer la gélatine autour de cette poudre.

Wood⁵ en 1965, dans une étude *in vivo*, remarqua que la libération de l'aspirine à partir de capsules était irrégulière et présentait un temps de latence de 15 minutes environ. Les premières études *in vitro* sur les capsules se limitaient à l'observation du temps de désagrégation. Comme pour les comprimés, Wagner⁶ a mis en évidence les limites de ce test qui ne donne pratiquement pas d'indication sur la biodisponibilité d'un principe actif. En effet, le test de désagrégation ne mesure que le temps requis par le comprimé ou la capsule pour se dissocier en petits fragments d'une dimension qui leur permet de passer à travers les grilles de l'appareil. Ce test ne dit pas en combien de temps le médicament sera réellement libéré à partir de ces agrégats. Beaucoup de substances peuvent être granulées puis comprimées et satisfaire aux exigences du test. Pourtant *in vivo*, les granulés peuvent franchir tout le tractus gastro-intestinal et être éliminés tout en demeurant inchangés.

Dans le test de désagrégation de la Ph. Helv. VI, toutes les capsules gélatineuses dures doivent présenter, après 30 minutes, une déchirure par laquelle on devra pouvoir faire sortir le contenu en exerçant une légère pression sur l'enveloppe à l'aide d'une baguette de verre. Par contre, la XIIe édition du N.F.⁷ ne précise pas le temps de désagrégation pour les capsules, car d'après ce manuel : "la paroi gélatineuse se dissout rapidement dans le tractus gastro-intestinal". On voit donc que pour le test de désagrégation des capsules, les formulaires officiels n'ont pas les mêmes critères.

Peu à peu, les tests de désagrégation sont remplacés ou complétés par des tests de dissolution qui permettent une meilleure compréhension des facteurs influençant la disponibilité d'un principe actif à partir d'une forme galénique.

La XIIIe édition du N.F., l'U.S.P. XVIII et le dernier supplément de la B.P. 1973 ont introduit le contrôle de la vitesse de dissolution pour certaines capsules.

I.2 Travaux antérieurs

I.2.1 Résumé des principaux travaux sur la libération des principes actifs incorporés dans des capsules de gélatine dures

Nous avons groupé sous forme de tableau les principaux travaux sur les capsules de gélatine dures. Nous ne citons pas les recherches effectuées uniquement sur la désagrégation des capsules (tabl. 1).

Tableau 1

Principaux travaux sur la libération *in vitro* de principes actifs incorporés dans des capsules de gélatine dures

Année	Auteurs	Tests <i>in vitro</i> Désagrégation	Disso- lution	Appareil de dissolution, type d'agitation	Principes actifs et solubilité dans l'eau [g/l]	Facteurs testés
1967	<i>Aguilar et coll. 5</i>	+	+	Bécher ↻ 70 tpm	Dérivés peu solubles de l'acide benzoïque	Forme galénique: poudres, comprimés, capsules Tensio-actif: (dans le milieu de dissolution et dans les capsules)
1968	<i>Aguilar et coll. 8</i>	+	+	Appareil USP modifié ↑ 30 mvts/min Bécher ↻ 11 tpm	Chloramphénicol 2,5	4 différentes formules du commerce
1969	<i>Withey et coll. 9</i>	-	+	Appareil USP modifié ↑ 30 mvts/min	Chloramphénicol 2,5	Grandeur des particules Adjuvant : lactose (16, 44, 80%)
1969	<i>McDonald et coll. 10</i>	+	+	Cellule en V, pompe de circulation, ↻ 25 mvts/min	Tétracycline	4 différentes formules du commerce

Tableau 1 (suite)

Année	Auteurs	Tests <i>in vitro</i>		Appareil de dissolution, type d'agitation	Principes actifs et solubilité dans l'eau [g/l]	Facteurs testés
1970	Newton et coll. 11	+	+	Bécher + spirale ♂ 45 tpm	Ethinamate 2,5	Porosité-perméabilité Grandeur des particules Surface spécifique
1970	Samy et coll. 12	+	+	Appareil USP modifié ↑ ↓ 30 mvts/min	Colorant	Adjuvants: lactose, talc, amidon, stéarate de Mg
1970	Rouley et coll. 13	-	+	Bécher ♂ 45 tpm	Principe actif peu soluble	Adjuvants: stéarate de Mg, lactose, laurylsulfate de Na
1971	Newton et coll. 14	-	+	Bécher ♂ 45 tpm	Ethinamate 2,5	Grandeur des particules Porosité Adjuvants: lactose, stéarate de Mg, laurylsulfate de Na (simultanément)
1971	Newton et coll. 15	-	+	Bécher ♂ 45 tpm	Ethinamate 2,5	Adjuvants: lactose, stéarate de Mg, laurylsulfate de Na (simultanément)

Tableau 1 (suite)

Année	Auteurs	Tests <i>in vitro</i> Désagrégation	Disso- lution	Appareil de dissolution, type d'agitation	Principes actifs et solubilité dans l'eau [g/l]	Facteurs testés
1972	<i>Khalil et coll. 16</i>	+	+	Appareil BP modifié ↑↓ 30 mvts/min	Chloramphénicol 2,5	Porosité-perméabilité Adjuvants: lactose, talc, stéarate de Mg, phosphate de Ca
1973	<i>Javies, et coll. 17</i>	-	+	Bécher ↺ 80 tpm	Phénobarbital 1,0 Phénobarbital sodique 1000,0	Adjuvants : lactose et amidon
1974	<i>Newton et coll. 18</i>	-	+	Bécher ↺ 45 tpm	Nitrofurantoiné 0,2 Nitrofurazone 0,02 Oxytétracycline 1,1 Tétracycline-HCl	Adjuvants: lactose, amidon, Primojel, stéarate de Mg, laurylsulfate de Na
1974	<i>Caldwell 19</i>	-	+	Appareil de désagrégation NF XIII, méthode II ↑↓ 30 mvts/min	Carbonate de lithium 12,8	Adjuvants: stéarate de Mg, laurylsulfate de Na Tensio-actif: dans le milieu de dissolution

Année	Auteurs	Tests <i>in vitro</i> Désagrégation	Disso- lution	Appareil de dissolution, type d'agitation	Principes actifs et solubilité dans l'eau [g/l]	Facteurs testés
1974	<i>Bell et coll. 20</i>	+	+	Bécher § 80 tpm	Phénobarbital ($< 63 \mu$) 1,0	Porosité-perméabilité Adjuvant: amidon
1977	<i>Newton et coll. 21</i>	-	+	Bécher § 45 tpm	Imipramine-HCl 500 Phénylbutazone pratiquement insoluble	Adjuvants: lactose, amidon Primojel, stéarate de Mg, laurylsulfate de Na
1977	<i>Newton et coll. 22</i>	-	+	Bécher § 45 tpm	Nitrofurazone 0,02	Adjuvants: lactose, stéarate de Mg, laurylsul- fate de Na

I.2.2 Facteurs influençant la libération

(Commentaires du tableau 1)

I.2.2.1 Dimension des particules

On sait depuis longtemps que la réduction de la taille des particules d'un principe actif relativement peu soluble augmente son absorption gastrique. En effet, plus les particules sont petites, plus leur vitesse de dissolution est rapide à cause de l'augmentation de surface présentée au milieu de dissolution. Cependant, en présence de médicaments peu solubles dont le mouillage et la dispersion sont également difficiles, les petites particules forment généralement des agrégats : c'est alors leur surface qui "contrôle" la dissolution, surtout au début du processus. Ce phénomène est encore aggravé par la présence de capsules⁵.

Dans leur étude concernant des capsules de chloramphénicol, *Withey* et *Mainville*⁹ ont observé que les cristaux supérieurs à 150 μm se dissolvaient moins vite que les plus petites particules. Pourtant, leurs hypothèses sont prudentes et ils suggèrent un contrôle rigoureux des autres variables (par ex. tamisage) avant de tirer des conclusions définitives. *Newton* et *Rowley*¹¹ ont remarqué que la diminution de la taille des particules diminue aussi la grandeur des pores entre celles-ci, ce qui réduit l'accès du solvant dans la masse de poudre; la libération du médicament est alors ralentie. *Finholt* et coll.²³ avaient fait les mêmes constatations avec des poudres de phénacétin

de barbital et d'aspirine, ces 3 substances présentant des propriétés hydrophobes.

I.2.2.2 Porosité

Dans le même article¹¹, *Newton* et *Rowley* ont également étudié l'influence de la porosité sur la dissolution. Pour des capsules de même porosité, la meilleure libération a lieu avec celles qui contiennent les plus grandes particules. Par contre, la dissolution de celles-ci est peu influencée par le tassement de la poudre à l'intérieur de la capsule, tandis que la diminution de la porosité produite par ce tassement réduit significativement la dissolution des petites particules. *Khalil* et *Ali*¹⁶ ont remarqué que d'une façon générale toute augmentation de la compacité dans les capsules diminue la vitesse de libération du médicament.

I.2.2.3 Adjuvants

Les adjuvants dont l'influence a été testée dans les travaux antérieurs peuvent se classer en groupes :

- 1) les diluants
- 2) les lubrifiants
- 3) les tensio-actifs

Diluants

Les diluants testés pour les capsules sont le lactose, le talc, les amidons et le phosphate de calcium. Avec le chloramphénicol, *Withey et Mainville*⁹ n'observent pas de modification de la vitesse de dissolution lorsqu'ils ajoutent des concentrations de lactose variant jusqu'à 50%; avec 80% par contre, ils signalent une diminution significative. Ils suggèrent alors que les fortes concentrations modifient les propriétés du milieu de dissolution (augmentation de la viscosité par exemple).

*Samyn et Yung*¹² relèvent une influence limitée du talc et de l'amidon, tandis que l'adjonction de lactose ou de phosphate de calcium améliore la pénétration du solvant dans les capsules ainsi que leur dissolution, surtout au début du processus.

Avec 15 et 25% de lactose ajouté dans des capsules de chloramphénicol, *Khalil et Ali*¹⁶ observent une diminution de la dissolution, spécialement pour des capsules remplies automatiquement. La même observation est faite avec le phosphate de calcium aux mêmes concentrations.

Avec l'éthinamate, *Newton et coll.*¹³⁻¹⁵ concluent qu'il faut au moins 50% de lactose pour améliorer la libération de ce principe actif; les concentrations inférieures sont insuffisantes pour modifier la nature hydrophobique de ce médicament.

*Davies et Fell*¹⁷ ont testé l'influence du lactose et de l'amidon de pomme de terre sur deux principes actifs de

solubilité très différente. Ces adjuvants n'ont pas d'effets sur le principe actif hydrosoluble. Ils accélèrent par contre la dissolution de la substance hydrophobe à partir d'une concentration de 25% de lactose ou d'amidon; ce dernier est moins efficace que le lactose.

*Bell et Fell*²⁰ ont continué les travaux de *Davies* sur le phénobarbital. La présence d'amidon augmente le taux de dissolution pour toutes les concentrations; les différences observées pour des capsules peu ou bien remplies sont éliminées par addition de 50% d'amidon. Des mesures de la perméabilité des poudres aux liquides montrent que ces dernières se transforment en une structure plus accessible au liquide de dissolution avec l'adjonction d'amidon; de même densité, il ne modifie pas la porosité du phénobarbital.

Lubrifiants

Toutes les études qui ont été faites sur l'influence du stéarate de magnésium, principal lubrifiant utilisé pour les capsules, aboutissent à la même conclusion : il retarde de façon significative la libération du médicament en raison de ses propriétés hydrophobes.

Tensio-actifs

Pour essayer d'améliorer le mouillage de la poudre, certains auteurs ont introduit un agent tensio-actif, soit dans le milieu de dissolution, soit directement dans les capsules.

En ajoutant 0,5% d'un polyol non ionique (Pluronic F-68) ou 0,5% d'un dérivé de l'acide sulfonique (Daxad^R No 11) directement dans les capsules, *Aguilar et coll.*⁵ ont augmenté la vitesse de dissolution de leur principe actif.

Newton et coll.^{13-15,18,21,22} ont testé l'influence du laurylsulfate de sodium (1% et 10%) ajouté dans la capsule. Avec l'éthinamate, la présence d'un agent mouillant améliore la libération de ce principe actif mais l'effet semble moindre avec 10% qu'avec 1%. Par contre, avec les autres principes actifs utilisés (nitrofurantoïne, nitrofurazone, oxytétracycline, tétracycline-HCl, phénylbutazone et imipramine-HCl), ils n'observent aucune amélioration de la vitesse de dissolution avec 1% de laurylsulfate ajouté à l'intérieur des capsules.

*Caldwell*¹⁹ a constaté que l'adjonction de laurylsulfate dans des capsules de carbonate de lithium améliorerait la dissolution de ce principe actif, mais que la présence du mouillant dans le milieu de dissolution, bien qu'il réduise significativement la tension superficielle, n'avait aucun effet.

I.2.2.4 Solubilité du principe actif

Dans un récent travail, *Newton et coll.*²¹ concluent que le facteur principal contrôlant la libération à partir des capsules est la solubilité du principe actif. Cette relation entre les vitesses de dissolution intrinsèque et les solubilités avait déjà été mise en évidence par *Hamlin, Northam et Wagner*²⁴ pour un certain nombre de substances.

*I.3 Revue des différentes méthodes utilisées pour tester
in vitro la vitesse de dissolution de principes actifs
incorporés dans des capsules de gélatine dures*

I.3.1 Remarques générales

Il existe un grand nombre de méthodes pour déterminer les vitesses de dissolution des formes galéniques solides, surtout adaptées pour les comprimés. Leur reproductibilité et leurs commodités²⁵ ainsi que la qualité des corrélations *in vitro* - *in vivo* peuvent être des critères de sélection. Le système doit empêcher l'évaporation du milieu de dissolution, importante à 37°. La plupart des auteurs utilisent des systèmes d'agitation rotatifs (hélice) ou ascendants et descendants. Le volume du solvant doit être assez important pour ne pas intervenir dans les phénomènes de solubilité; on le choisit généralement de telle façon que la concentration du principe actif dans le milieu de dissolution ne dépasse pas 10 à 20% de la concentration de saturation²⁶. Le plus souvent, les appareils de dissolution décrits dans la littérature conviennent généralement mieux pour les comprimés que pour les capsules. En effet, celles-ci flottent à la surface du milieu de dissolution si elles ne sont pas maintenues immergées par un dispositif adéquat (panier, spirale, billes incorporées dans la capsule, etc.). Ce dernier, cependant, est parfois responsable du manque de reproductibilité des résultats.

Certains auteurs laissent librement flotter la capsule et lorsque la gélatine s'est solubilisée, l'air qui était incorporé dans celle-là s'échappe et la poudre tombe au fond du récipient¹⁰. Ce phénomène ne se produit pas avec les poudres hydrophobes qui restent en surface²³.

D'après *Poole*²⁷, l'usage de la spirale pour immerger la capsule est préférable au panier, car dans celui-ci la capsule bouge et les grilles sont rapidement bouchées par la gélatine et la poudre, ce qui freine l'accès du solvant. Les résultats sont alors peu reproductibles.

Les systèmes les plus fréquemment utilisés (avec ou sans modifications) pour tester les capsules sont le bécier de *Levy et Hayes*²⁸, le ballon à 3 cols de *Poole*²⁷, les appareils de dissolution prescrits par la Pharmacopée Américaine (USP XVIII)²⁹ et le National Formulary XII et XIII⁷ et l'appareil de désagréation de la Pharmacopée Britannique (BP 1968)³⁰.

En 1963, *Paikoff et Drumm*⁴ ont proposé un agitateur en verre, percé d'un trou dans lequel on peut glisser la capsule. D'après les auteurs, cet appareil peut être employé pour les tests de désagréation et de dissolution. *Pernarowski et coll.*³¹ ont fixé un panier sous l'agitateur, celui-ci tournant à 100 tpm. *McDonald et coll.*¹⁰ ont testé une chambre de dissolution cylindrique en forme de V et pivotant sur un axe (25 oscillations par minute). Les échantillons sont prélevés automatiquement avec une pompe. En 1970, *Lin, Menig et Schwartz*³² ont passé en revue les différents appareils de dissolution pour les capsules. La méthode

"USP"²⁹ avec le panier leur a semblé la meilleure pour sa simplicité et sa polyvalence. Par contre, ils conseillent l'emploi d'une grille plus grossière pour éviter qu'elle ne se bouche (8 mesh à la place de 40 mesh). En 1972, *Shepherd, Price* et *Luzzi*³³ ont utilisé un bécher avec un panier fixé par un aimant au fond du récipient (= panier magnétique). De cette façon, le panier ne bouge pas et reste toujours dans la même position pour tous les essais. L'agitation est obtenue par une hélice à 3 pales. Au fond d'un bécher fermé, *Goodhart, MacCoy* et *Ninger*³⁴ ont fixé une plate-forme percée de trous pour adapter des capsules ou des comprimés. D'après les auteurs, l'appareil est satisfaisant tant pour les tests de désagrégation que pour les tests de dissolution. En 1974 enfin, *Needham* et *Luzzi*³⁵ ont testé le bécher de *Levy*, l'appareil USP et la méthode du panier magnétique ainsi que 4 vitesses d'agitation (150, 120, 90 et 60 tpm). Pour les comprimés et pour les capsules, on obtient une libération plus rapide avec l'appareil USP qu'avec les deux autres méthodes. Suivant la grandeur du panier magnétique de l'appareil de *Shepherd* et la dimension de ses mailles, les résultats sont soit plus rapides soit plus lents qu'avec la méthode du bécher de *Levy*. Pour les trois méthodes, la vitesse de dissolution croît avec la vitesse d'agitation et ceci pour les comprimés et les capsules.

I.4 Conclusions

En étudiant tous ces travaux, on constate qu'il est difficile de prévoir le rôle et l'action de certains facteurs sur la disponibilité d'un médicament incorporé dans des capsules. Les conclusions et les observations des différents auteurs sont souvent contradictoires et il apparaît indispensable d'acquérir plus d'informations avec une plus grande variété de substances actives ou auxiliaires, et d'étudier plus en détail encore, le processus de libération.

Depuis quelques années, les tests de dissolution pour les comprimés se sont orientés vers des méthodes dites à "flux continu"; la forme galénique se trouve alors dans un milieu de dissolution toujours renouvelé³⁶⁻³⁸ pour se rapprocher davantage des conditions physiologiques et simuler le mouvement du suc gastrique dans l'estomac.

De tels appareils n'ont pratiquement pas encore été utilisés pour les capsules. Pourtant, les modèles traditionnels proposés dans la littérature ne donnent pas entière satisfaction pour cette forme galénique. Sa propriété de flotter pose un problème toujours délicat, qui pourrait être résolu en partie avec une méthode à "flux continu". En effet, la capsule serait toujours immergée et en contact avec un solvant sans cesse renouvelé. La gélatine serait éliminée par le passage du suc gastrique artificiel et les poudres hydrophobes ne se disperseraient plus à la surface du milieu de dissolution comme c'est le cas avec le "bécher de *Levy*" par exemple.

Pour notre étude sur les phénomènes de libération à partir des capsules, il est important de choisir une méthode sensible, reproductible et susceptible de fournir un haut degré de corrélation avec les phénomènes *in vivo*.

II. Essais préliminaires

II.1 Généralités sur les capsules de gélatine dures

Les capsules de gélatine dures (capsules par emboîtement, gélules), sont destinées à la voie orale et représentent une unité de prise; elles sont surtout utilisées pour l'administration de mélanges pulvérulents³⁹; l'enveloppe de la capsule est soluble dans les sucs digestifs. Elles ne peuvent être considérées comme des articles de conditionnement puisqu'elles sont absorbées par le patient. Il est donc nécessaire de les contrôler au même titre que les excipients⁴⁰.

L'enveloppe est essentiellement constituée de gélatine pure avec une faible teneur en eau (12 à 15%). On y ajoute parfois des colorants, un opacifiant (oxyde de titane) et des conservateurs³⁹.

La gélatine présente pratiquement la même composition en acides aminés que celle du collagène. On distingue la gélatine d'os, la gélatine tirée des peaux de bovins et celle provenant de peaux de porcs. Le poids moléculaire est d'environ 110000. A cause de la longueur de sa molécule, la gélatine peut former une "gelée" lors du refroidissement des solutions préparées à chaud, propriété qui disparaît partiellement sous l'influence de températures trop élevées. La qualité de la gélatine destinée à la fabrication des capsules nécessite de nombreux contrôles⁴¹.

En plus des exigences des Pharmacopées, des examens de la viscosité, du pH, de la teneur en eau, la recherche des phosphates et sulfites, de même que des tests bactériologiques sont également nécessaires^{42,43}.

Concernant la conservation des capsules, toutes les Pharmacopées se contentent de prescrire leur entreposage "à l'abri de l'humidité" ou dans des "récipients bien fermés". Certains fabricants estiment qu'une humidité relative de 30 - 40% et la température ambiante représentent les conditions les meilleures⁴¹. Si les capsules sont conservées dans un dessiccateur par exemple, elles perdent de l'eau, ce qui les rend friables et cassantes; si, au contraire, elles sont exposées à une trop grande humidité, elles deviennent collantes, informes et risquent de moisir⁴⁴.

II.1.1 Remplissage des capsules

Le remplissage des capsules peut être manuel, semi-automatique ou automatique. Pour des petites quantités, on utilise des géluliers (= méthode manuelle) avec lesquels le remplissage se fait généralement par arasement.

Les machines automatiques industrielles peuvent être équipées de 3 dispositifs de remplissage différents⁴⁵ :

- système doseur à vis sans fin
- dispositif de remplissage à pistons (= arasage)
- système compresse-doseur avec disque de dosage²

Le remplissage à la main est la méthode la moins précise. D'autre part, il existe des substances qui se prêtent mal à l'encapsulage et ne permettent pas d'atteindre une exactitude de poids satisfaisante.

Les propriétés d'écoulement et de conditionnement permettent de distinguer a priori les substances favorables ou non à l'encapsulage.

Le matériau humide coule mal, de même que les formes cristallines inadéquates (aiguilles); les substances dont le volume apparent diffère trop du volume après tassage forment des ponts et des arcs difficiles à défaire par agitation et offrent de ce fait de mauvaises propriétés d'écoulement⁴⁵.

II.1.2 Contrôle des capsules

La plupart des Pharmacopées prescrivent deux essais généraux :

- détermination du poids moyen du contenu (tabl. 2)
- temps de désagrégation (tabl. 3)

Tableau 2

Uniformité du poids de remplissage : exigences des Pharmacopées

Pharmacopée	Niveau d'examen	Méthode utilisée	Nombre d'unités prélevées	Valeur du poids moyen M	I limites d'acceptation	Nombre max. de valeurs extérieures tolérées	II limites d'acceptation	Nombre de valeurs extérieures tolérées
BP 1968 BPC 1968	unique	indirecte	20	$M \leq 120 \text{ mg}$	$M \pm 10 \%$	2	$M \pm 20 \%$	0
				$M > 120 \text{ mg}$	$M \pm 7,5 \%$	2	$M \pm 15 \%$	0
DAB 7/DDR 1964	unique	indirecte	10	$M \leq 50 \text{ mg}$	$M \pm 15 \%$	1	$M \pm 30 \%$	0
				$50 < M \leq 150 \text{ mg}$	$M \pm 10 \%$	1	$M \pm 20 \%$	0
				$150 < M \leq 300 \text{ mg}$	$M \pm 7,5 \%$	1	$M \pm 15 \%$	0
				$M > 300 \text{ mg}$	$M \pm 5 \%$	1	$M \pm 10 \%$	0
DAB 7/BR 1968	unique	indirecte	20		$M \pm 10 \%$	2	$M \pm 15 \%$	0
PB V 1962	unique	indirecte	20		$M \pm (5\% + 10\text{mg})$	2	$M \pm (10\% + 20\text{mg})$	0
PH VI	unique	indirecte	30		$M \pm 15 \%^{*}$	0		
PN 1964	unique	indirecte	20		$M \pm 10 \%$	2	$M \pm 20 \%$	0
PS 1946	unique	indirecte	30		déviati on standard relative maxima : 7,5 %**			
WHO**1967	1er	directe	20		$M \pm 10 \%$	0		
	2è	indirecte			$M \pm 10 \%$	2	$M \pm 20 \%$	0
USP XVIII*** 1970 NF XII	1er	directe	20		$M \pm 10 \%$	0		
	2è	indirecte			$M \pm 10 \%$	2	$M \pm 25 \%$	0
	3è	indirecte			$M \pm 10 \%$	6	$M \pm 25 \%$	0

Tableau 3

*Tableau comparatif des conditions et temps de désagrégation
des capsules de gélatine dures dans les principales
Pharmacopées⁴¹*

Pharmacopées	Milieu de désagrégation	Température [°]	Agitation	Temps de désagrégation maximum
Ph. Helv. VI (1971)	Suc artificiel+ pepsine	37	↓↑ 30/min	Libération du contenu en 30 min (déchirure)
DAB 7 (1968)	Suc artificiel+ pepsine	37	↓↑ 30/min	10 min
Ph. Britannique (1968)	eau	37	↓↑ 30/min	Doivent se désagréger
Ph. Française IX éd. (1974)	eau	37	Toutes les 5 min ↓↑ 15 x pdt 30 sec	45 min
Ph. Belge (1960)	eau	37		2 h
Ph. Autrichienne (1960)	eau	36-40		2 h
Ph. Nordique Ed. Danoise (1963)	eau	36-40		10 min

Temps de désagrégation⁴⁶

La plupart des Pharmacopées fixent une limite pour le temps de désagrégation des capsules; les tests se déroulent de la même façon et avec les mêmes appareils que pour les comprimés (tabl. 3).

Toutes les mesures se font à 37⁰, mais la dimension des appareils, le milieu de dissolution et l'agitation varient d'une Pharmacopée à l'autre. A côté des méthodes officielles, d'autres types d'appareils ont été développés, de construction plus simple ou se rapprochant plus des conditions physiologiques^{34, 47-49}.

II.1.3 Intérêt des capsules

Les capsules peuvent faciliter la prise de médicaments de saveur ou d'odeur peu agréables. Les antibiotiques par exemple, souvent amers, ont largement contribué au développement des capsules. Les médicaments sont protégés contre les influences mécaniques, l'anhydride carbonique et l'oxygène, les odeurs, l'humidité, les bactéries et même contre la lumière si l'on emploie des capsules opaques.

Dans certains cas, on peut rendre la capsule résistante au suc gastrique en l'enrobant d'une couche entérosoluble. Les capsules de gélatine dures permettent un remplissage sans granulation préalable des substances sèches. Les réactions éventuelles entre les constituants (= incompatibilités) peuvent ainsi être réduites.

La mise au point de la formule est plus simple que pour les comprimés. Les capsules sont pratiques pour l'expérimentation clinique ainsi que pour les produits marqués.

Pendant longtemps, on a cru que l'on pouvait attendre le maximum d'effet d'un principe actif introduit sans préparation dans une capsule. Tel n'est pas le cas. Même pour des essais préliminaires, un minimum de précautions est nécessaire; on connaît aujourd'hui l'influence que peut avoir la granulométrie sur la vitesse de dissolution, spécialement pour les substances peu solubles. On sait également que des adjuvants peuvent être responsables de certaines incompatibilités.

La biodisponibilité des principes actifs contenus dans des capsules ne peut être déterminée que par des tests *in vivo* avec des dosages sanguins ou urinaires par exemple. La comparaison entre différentes formules ou avec d'autres formes galéniques est alors possible.

On trouve dans la littérature⁵⁰ de nombreux exemples de comparaisons entre comprimés et capsules. Tantôt ce sont les capsules, tantôt ce sont les comprimés qui montrent une meilleure absorption. C'est ainsi que les capsules de phénoxy méthylpénicilline sont mieux absorbées que les comprimés, alors que c'est le contraire pour l'aspirine. Les comprimés sont préférables aux capsules pour la tolbutamide; par contre, la vitesse d'absorption du diazoxide est plus rapide à partir d'une capsule que d'un comprimé. Cependant, ces remarques ne sont valables que pour les formulations étudiées et ne sauraient être généralisées.

Lorsqu'on a testé l'indoxole sous forme d'émulsion, de suspension ou de capsules, c'est cette dernière forme galénique qui a montré la vitesse d'absorption la plus lente, probablement à cause de la formation d'agrégats dans la capsule. On peut donc déterminer facilement les avantages et les inconvénients généraux des capsules du point de vue technologique. En revanche, en ce qui concerne l'effet thérapeutique ou la biodisponibilité, on ne peut dire a priori si la capsule est préférable aux autres formes galéniques; cela dépend de la nature du principe actif, de la formulation (par exemple nature et quantité des diluants) et des conditions de fabrication.

II.2 Partie expérimentale

II.2.1 Préparation des capsules

Pour tous nos essais, nous avons choisi des capsules incolores de gélatine dures (Parke-Davis, Capsugel S.A., Bâle). Parmi les 8 grandeurs disponibles, nous avons porté notre choix, pour des raisons pratiques, sur la taille No 1, qui représente une grandeur moyenne. Les capsules vides sont conservées dans un flacon en verre brun, à température ambiante.

Tableau 4

*Spécifications des capsules de gélatine dures No 1
de Parke-Davis⁵¹*

	Partie inférieure	Partie supérieure	Capsule entière fermée
Longueur [mm]	$16,87 \pm 0,46$	$9,65 \pm 0,46$	$19,30 \pm 0,76$
Epaisseur des doubles parois [mm]	$0,2030 \pm 0,0250$	$0,0083 \pm 0,0012$	—
Diamètre extérieur [mm]	6,55	6,83	—
Poids [mg]	44 - 51	29 - 34	73 - 85
Capacité [ml]	0,50	—	—

Pour toutes les opérations de remplissage, nous avons utilisé un gélulier manuel de la maison Equipart (Rosendaël France). Il se compose d'un socle fixe et de plaques mobiles percées de trous; ces plaques peuvent occuper 3 niveaux différents :

- le niveau supérieur correspond à la position de remplissage
- le niveau moyen sert à la fermeture des gélules remplies
- le niveau inférieur permet l'éjection facile du médicament terminé.

Ce gélulier permet de préparer 50 capsules à la fois. Pour des quantités inférieures, il suffit d'obturer le nombre de trous non utilisés avec un adhésif.

Pour chaque essai, seulement 5 capsules sont remplies simultanément pour éviter un stockage prolongé. Ces dernières sont toujours testées dans les deux jours qui suivent leur remplissage et sont conservées à l'abri de la lumière dans un poudrier à fermeture "snap-cap".

Chaque gelule vide est pesée, et seules celles dont le poids varie entre 76-78 mg sont utilisées. Par des tests de porosité (cf. chap. II.2.2), nous avons déterminé la quantité de poudre que l'on pouvait incorporer par unité. Le remplissage se fait par arasement et le poids de chaque capsule est vérifié et ajusté si nécessaire. Une fois fermée, l'enveloppe est dépoussiérée avant d'être placée dans un poudrier.

II.2.2 Détermination du volume total d'une capsule de gélatine dure

Le volume disponible dans une capsule de gélatine dure No 1 est d'environ 0,50 ml. Cette valeur ne représente pas le volume total de la capsule fermée, mais seulement le volume de la partie inférieure. Lorsqu'on ferme la gélule, le volume du couvercle s'ajoute en partie au volume du fond.

Pour des mesures ultérieures de porosité, il était nécessaire de connaître le volume total interne de la capsule fermée. Pour cela, elle est pesée sans son contenu. Ensuite, à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille fine, elle est percée délicatement et remplie complètement d'eau distillée (21° C) en prenant bien soin qu'il n'y ait pas de bulles d'air, puis elle est à nouveau pesée.

Résultats :

$$\text{poids total} - \text{tare} = \text{poids de l'eau en g} = 0,544 \text{ g } (\pm 0,006) \\ \text{=====}$$

(la valeur entre parenthèses exprime l'écart-type de la moyenne de 4 déterminations)

$$\text{densité de l'eau à } 21^{\circ} \text{ C} = 0,998$$

$$\text{volume de la capsule} = \frac{M}{D} = \frac{0,544}{0,998} = \frac{0,545 \text{ ml}}{\text{=====}}$$

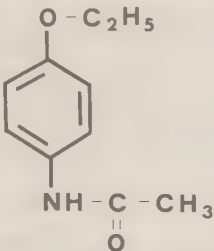
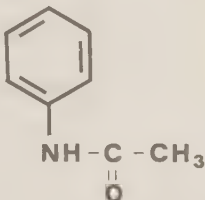
Nous avons utilisé cette valeur pour tous nos calculs de porosité.

II.2.3 Choix des principes actifs

Pour nos essais, nous avons choisi deux principes actifs jouant le rôle de traceurs. Il s'agit de la phénacétine (purum, Fluka A.G., CH-9470 Buchs) et de l'acétanilide (très pure DAB, Merck A.G., Darmstadt, RFA). Ces deux substances (tabl. 5) ont été choisies pour les raisons suivantes : elles sont peu solubles mais leurs solubilités sont assez différentes, elles sont stables, de structure chimique voisine, et peu coûteuses. Ce sont deux poudres blanches de forme cristalline semblable, dosables par spectrophotométrie U.V. Leur métabolisme est connu et permet d'envisager des essais *in vivo*.

Tableau 5

Propriétés physico-chimiques

	Phénacétine	Acétanilide
Structure chimique		
Poids moléculaire	179,20	135,16
Nom chimique	Acétamido-1-éthoxy-4-benzène	N-phénylacétamide
Synonymes	Acétophénétidine, p-éthoxyacétanilide	Antifébrine Acétylaniline
Max. absorption UV [nm] (suc gastr. artificiel)	244	238,5
Solubilité [g/l] H ₂ O 20° Suc gastrique 37°	0,76 1,20	5,40 8,97
Densité réelle	1,252	1,222
Incompatibilités	Phénol, hydrate de chloral, pyrocatechol, acides et bases fortes, oxydants, iode	Phénol, hydrate de chloral, résorcinol, thymol, sels de fer, bases, nitrate d'éthyle, nitrite d'amyle, iodures et bromures

II.2.4 Détermination des solubilités dans le suc gastrique artificiel

Dans des flacons d'Erlenmeyer à double paroi de 250 ml et à bouchon rôdé, on introduit 100,0 ml de solvant (suc gastrique artificiel sans enzyme, Ph. Helv. VI), ainsi qu'un excès de principe actif. Le mélange est thermostatisé à 37° et agité au moyen d'agitateurs magnétiques à 300 tpm jusqu'à obtention de l'équilibre.

Les échantillons (~ 1 ml) prélevés avec une pipette munie d'un filtre Millipore sont dilués avec le solvant et dosés au spectrophotomètre (voir résultats tabl. 5).

II.2.5 Détermination de la densité réelle des principes actifs

La densité d'un produit joue un rôle important dans les opérations de compression et d'encapsulation^{39,40,52}.

La densité vraie ou réelle correspond au volume occupé par le solide à l'exclusion de toute porosité. Ce volume réel est égal au volume total de la poudre moins celui des pores. La densité réelle n'est donc influencée ni par la dimension ni par la forme des particules. Elle est spécifique d'une substance et on peut trouver sa valeur dans des tables ou la déterminer à l'aide d'un pycnomètre de Beckman par exemple.

Le principe de cet appareil (Beckman air comparison pycnometer, modèle 930) repose sur la loi des gaz de Boyle-Mariotte. Le produit de la pression et du volume reste constant pour un gaz comprimé d'une façon isothermique ($p \cdot V = \text{constant}$).

En connaissant le poids de l'échantillon, on peut calculer la densité réelle après avoir déterminé le volume réel avec le pycnomètre.

$$\rho_r = \frac{M}{V_r} \quad (1)$$

où ρ_r = densité réelle

V_r = volume réel

M = poids

Les résultats, pour les deux substances, sont exprimés dans le tableau 6.

Tableau 6

Volume et densité réels

	Phénacétine	Acétanilide
Prise [g]	10,00	10,00
Volume réel obtenu (V_r) [ml]	7,99 ($\pm$ 0,04) *	8,19 ($\pm$ 0,03) *
Densité réelle (ρ_r)	1,252	1,222

* Les valeurs entre parenthèses expriment les écarts-type de la moyenne de 8 déterminations. Les mesures ont été effectuées à 22° C.

II.2.6 Description et choix de la méthode de mesure de la vitesse de libération

II.2.6.1 Généralités sur les méthodes à "flux continu"

Plusieurs auteurs³⁶⁻³⁸ ont critiqué les méthodes traditionnelles de dissolution qui s'éloignent trop des conditions physiologiques. En effet, les conditions de dissolution dépendent de paramètres tels que les dimensions du récipient, la vitesse et la forme d'agitation, le volume et la nature du liquide, etc. Dans toutes ces méthodes, la concentration du principe actif augmente jusqu'à saturation ou jusqu'à complète dissolution. Cette augmentation est totalement différente du processus d'absorption au cours duquel la quantité dissoute est continuellement absorbée et éliminée du suc gastrique ou intestinal³⁷.

Pour essayer de s'approcher des conditions *in vivo*, certains auteurs ont imaginé des systèmes dans lesquels le médicament, placé dans une cellule, est mis en contact avec un flux de solvant ayant un débit constant. Cette technique peut être divisée en 2 groupes :

- 1) Recyclage du flux continu³⁶.
- 2) Flux continu de solvant frais³⁷.

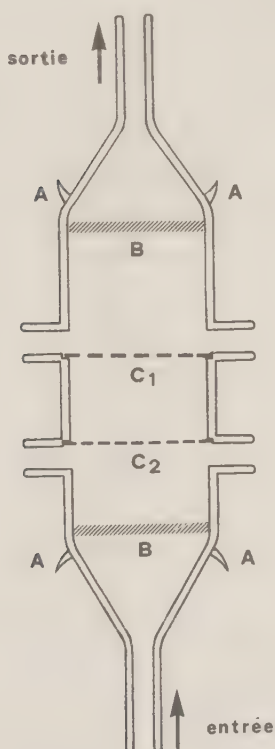
L'analyse des principes actifs libérés se fait soit manuellement au moyen de prélèvements, soit par enregistrement automatique des valeurs fournies par le spectrophotomètre.

II.2.6.2 Description de la cellule

Pour les raisons énumérées précédemment, nous avons décidé de tester nos capsules avec une méthode à flux continu, mise au point dans nos laboratoires⁵³.

Figure 1

Cellule de dissolution

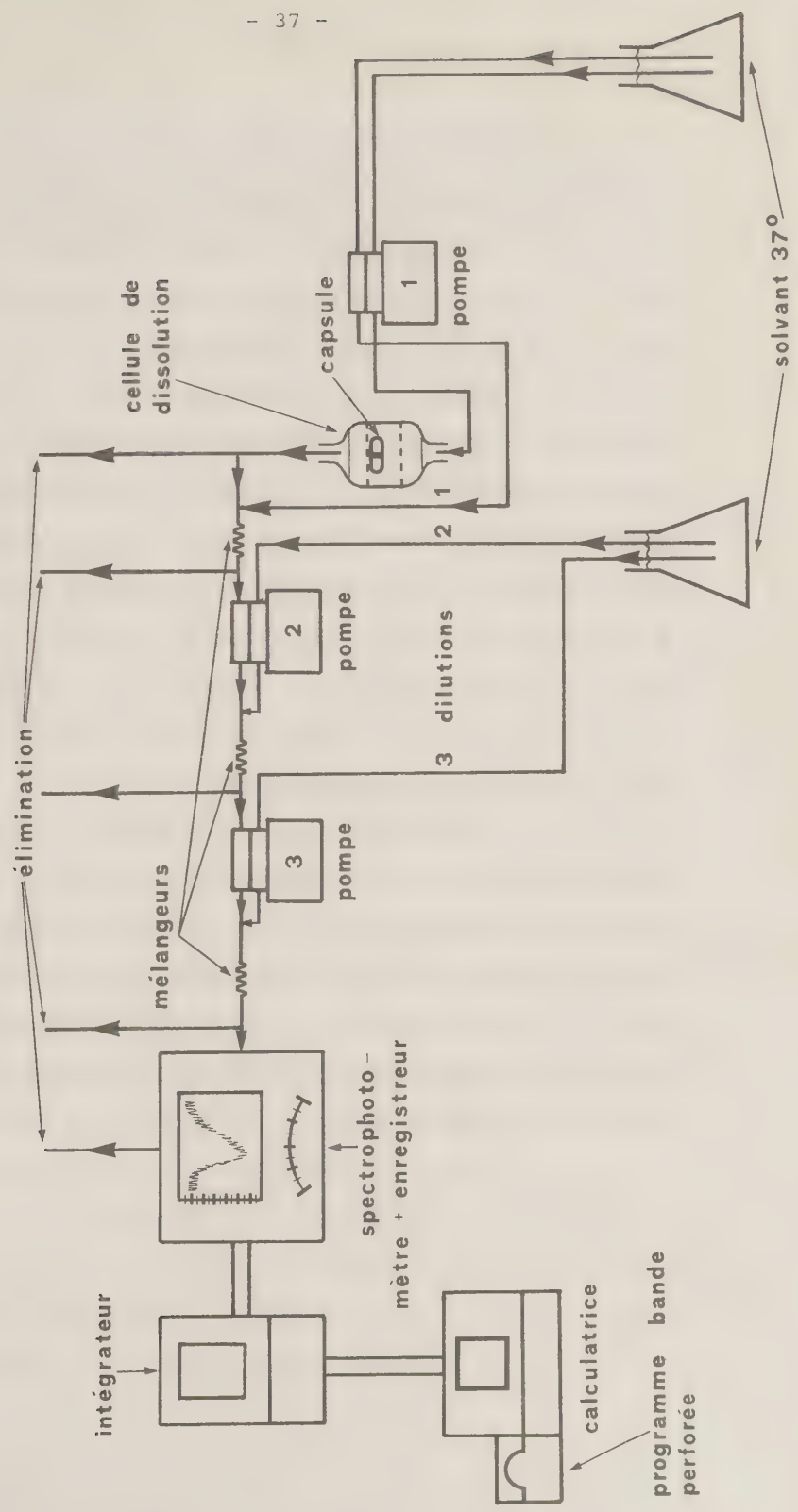


La cellule de dissolution (fig. 1) est en verre. Elle est composée de 3 parties retenues entre elles par 3 ressorts métalliques qui s'accrochent aux ergots prévus sur les parties inférieure et supérieure (A). Ces dernières sont munies de filtres en verre fritté G_2 (B).

Entre les parties inférieure et médiane ainsi qu'entre les parties supérieure et médiane, on place deux grilles amovibles (C_1 et C_2) circulaires en acier inoxydable. Ces grilles ont des mailles carrées de 1,8 mm pour la grille inférieure (C_2) et de 1,5 mm pour la grille supérieure (C_1). La distance entre les deux filtres de verre fritté est de 5 cm. La largeur interne de la cellule est de 2,3 cm et le volume total entre les 2 filtres est de 18,06 ml. La capsule est placée entre les deux grilles.

Avec les appareils dont nous disposions (fig. 2), nous avons pu utiliser une méthode complètement automatique pour doser les principes actifs libérés des capsules.

Figure 2
Schéma de l'appareillage pour la détermination automatique de la vitesse de libération



II.2.6.3 Mode opératoire

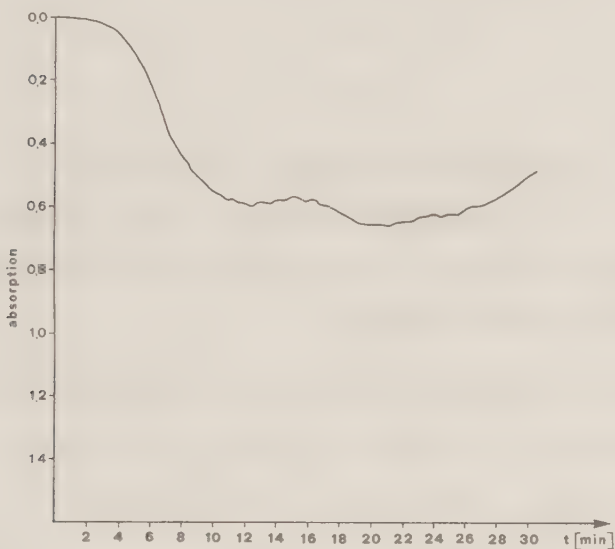
La capsule est placée dans la cellule de dissolution sur la grille inférieure. Le solvant, chauffé à 37° est acheminé dans la cellule grâce à une pompe péristaltique (Vario-Perpex) dont le débit a été fixé à 26,5 ml/min.

Lorsque le solvant pénètre dans la cellule qui est maintenue verticalement, la capsule est entraînée jusqu'à la grille supérieure et elle reste dans cette position pendant toute la dissolution. Grâce au débit choisi, le solvant qui sort de la cellule ne présente pas de turbulence; ensuite, il passe à travers des serpentins de verre qui jouent le rôle de mélangeurs. Une partie du solvant (diluée ou non) pénètre dans la cuve à flux continu du spectrophotomètre (Perkin-Elmer, modèle 402), de 0,5 cm d'épaisseur.

Le spectrophotomètre enregistre continuellement l'absorption et l'intégration des courbes est calculée par un intégrateur (Infotronics, modèle CRS-108) relié directement au spectrophotomètre. Une calculatrice électronique (Diehl Combित्रon S) est programmée pour transformer les valeurs de l'intégrateur en quantité totale de substance libérée (mg et %) en fonction du temps (fig. 3).

Figure 3

Exemple d'un graphique de dissolution enregistré par le spectrophotomètre Perkin-Elmer 402 (longueur d'onde constante) (phénacétine 400 - 500 μm + T 80 0,001%)



Selon les expériences, on peut modifier les dilutions en changeant la vitesse des pompes 2 et 3 et en augmentant ou en diminuant le diamètre des tuyaux de silicone (3 et 1,3 mm).

Il est nécessaire de vérifier fréquemment le débit du solvant car avec l'usure et l'aplatissement des tuyaux au niveau des pompes, il a tendance à diminuer.

Entre chaque expérience, la cellule est rincée à l'eau distillée et séchée à l'acétone. Nous avons remarqué que c'était la seule méthode pour éviter la formation de bulles d'air au niveau des filtres de verre fritté.

Le milieu de dissolution utilisé est le suc gastrique artificiel sans enzyme Ph. Helv. VI. Des essais préliminaires ont montré que l'adjonction de pepsine n'avait aucune influence sur la vitesse de libération.

II.2.6.4 Calculs et étalonnage

L'intégrateur fournit des nombres en fonction de la surface de la courbe dessinée par le spectrophotomètre. Pour transformer ces nombres en quantité de substance libérée, on procède de la façon suivante :

On fait passer par la cuve du spectrophotomètre des solutions de concentrations connues avec un débit constant (26,5 ml/min). Chaque minute, l'intégrateur imprime un nombre qui est constant tant que la concentration du principe actif n'est pas modifiée. Il suffit de faire passer plusieurs solutions de concentrations différentes pour tracer le graphique des nombres de l'intégrateur en fonction de la quantité de substance en mg par minute.

III. Etude *in vitro* de la vitesse de dissolution

III.1 Influence de la grandeur des particules

III.1.1 Aspect théorique

On admet généralement que la vitesse à laquelle un principe actif peu soluble se dissout dans le tractus gastro-intestinal contrôle complètement ou en partie son absorption⁵⁴.

Les paramètres impliqués dans la vitesse de dissolution d'une substance ont été formulés par *Noyes et Whitney*⁵⁵

$$\frac{dC}{dt} = K \cdot S (C_s - C) \quad (2)$$

où $\frac{dC}{dt}$ = vitesse de dissolution

K = constante de vitesse

S = surface effective de dissolution

C = concentration de la substance dans le milieu de dissolution au temps t

C_s = solubilité de la substance dans le milieu de dissolution

Selon l'équation de *Noyes et Whitney*, la vitesse de dissolution d'une substance solide est à chaque instant directement proportionnelle à la différence entre la concentration

de saturation et la concentration au temps t . Toute augmentation de la surface S^{23} entraîne une augmentation de la vitesse de dissolution.

En réduisant la dimension des particules, on augmente la surface exposée au milieu de dissolution.

Théoriquement, plus les grains sont petits et plus la vitesse de dissolution doit être grande. L'équation (2) nécessite la connaissance de la surface effective à tous les moments⁵⁶. *In vivo* cependant, le terme $(C_s - C)$ est normalement sans importance, puisque la substance absorbée quitte le lieu d'absorption.

En respectant les "sink conditions", $C \leq 0,10 C_s$, l'équation de *Noyes* et *Whitney* devient :

$$\frac{dC}{dt} = K \cdot S \cdot C_s \quad (3)$$

Cette équation indique que si la surface est maintenue constante, la vitesse de dissolution est alors constante et on est en présence d'une cinétique d'ordre 0.

*Wagner*⁵⁶ a démontré que les formes galéniques à action prolongée libéraient leurs principes actifs avec une vitesse de 1^{er} ordre et que ce concept pouvait s'appliquer également aux formes solides traditionnelles (comprimés et capsules). Ainsi le pourcentage de substance non dissoute peut être porté sur une échelle logarithmique en ordonnée, en fonction du temps. On obtient alors une droite, sauf pour les premières minutes de dissolution.

On peut appliquer la formule suivante⁵⁶

$$\log (Q_o - Q_t) = \log Q_o - \frac{K \cdot t}{2,303} \quad (4)$$

où Q_o = quantité initiale de principe actif

Q_t = quantité de principe actif libéré au temps t

III.1.2 Partie expérimentale

III.1.2.1 Calibrage des principes actifs par tamisage

Pour toutes les opérations de fractionnement, on a utilisé un tamis à courant d'air (Alpine A 200, L.S. Bösch et Co, Zollikon). Le principe de cet appareil permet des analyses granulométriques rapides et précises et rend possible, grâce au balayage continu d'une buse tournante, la séparation de fractions plus petites qu'avec le tamisage ordinaire.

On place l'échantillon (max. 100 g) sur le tamis qui est lui-même fixé de façon hermétique sur un support.

On met l'appareil en marche en vérifiant le vide avec le manomètre. Un vide insuffisant indique que le papier filtre est colmaté et qu'il faut le changer.

Pour les fractions supérieures à 63 μ m, la durée optimale de tamisage est de 5 minutes. Les fractions inférieures nécessitent un tamisage plus long à cause de l'électricité statique et des forces de cohésion qui dépassent les forces de gravitation.

On vérifie au microscope optique l'homogénéité de chaque fraction et on répète le tamisage si nécessaire.

Les tamis sont soigneusement lavés et séchés avant chaque opération.

III.1.2.2 Choix des grandeurs de particules

Le tamis Alpine a permis de séparer, pour les deux principes actifs, les fractions suivantes [μm] :

- | | |
|--------------|--------------|
| a) 63 - 100 | d) 315 - 400 |
| b) 100 - 200 | e) 400 - 500 |
| c) 200 - 315 | f) > 500 |

Pour l'acétanilide seulement, nous avons encore testé la fraction inférieure à 63 μm , la fraction correspondante de phénacétine étant très peu importante.

III.1.2.3 Détermination de la porosité en fonction des particules choisies

On peut définir la porosité comme le pourcentage d'espaces vides d'une poudre ou d'un granulé.

La *porosité totale* (ϵ_{tot}) est le rapport entre la *densité apparente* (ρ_d) et la *densité vraie* (ρ_r).

La densité apparente ou densité de remplissage, appelée également densité de décharge (ρ_d) correspond au quotient masse/volume de la poudre versée dans un cylindre gradué sans tassement.

Détermination de la densité de décharge

On verse l'échantillon (12 g) dans un cylindre de 25 ml muni d'un entonnoir et on lit le volume occupé par la poudre. Pour chaque échantillon, on effectue au moins 3 déterminations. Connaissant le poids de la poudre et son volume apparent, on peut calculer ρ_d (tabl. 7).

La porosité totale est calculée d'après la formule (5)

$$\epsilon_{\text{tot}} = 1 - \frac{\rho_d}{\rho_r} \quad (5)$$

Remarque

La densité "après tassage" correspond au quotient masse/volume de la poudre après tassage jusqu'à un volume constant (tabl. 7).

La porosité totale diminue avec la grandeur des particules, c'est-à-dire que les grandes particules occupent un plus petit volume de remplissage.

En raison de leurs charges électrostatiques, les petites particules de 100 - 200 μm ont tendance à adhérer aux parois du cylindre, faussant ainsi la lecture du volume de remplissage. La "densité après tassage" est une valeur assez subjective car elle dépend de l'appareillage et de l'expérimentateur. On peut cependant remarquer que les grandes particules

se tassent moins bien que les petites qui, après tassement, occupent un plus petit volume. Les densités après tassage diffèrent de toute façon assez peu d'une fraction à l'autre.

Tableau 7

Détermination des porosités en fonction des grandeurs de particules

Fractions [μm]	Densité réelle ρ_r	Densité de décharge ρ_d	Porosité totale $\left(1 - \frac{\rho_d}{\rho_r}\right) \cdot 100$ [%]	Densité après tassage
<u>Phénacétine</u>				
100 - 200	1,252	0,55	56,2	0,69
200 - 315	"	0,54	57,0	0,68
315 - 400	"	0,57	54,0	0,67
400 - 500	"	0,59	53,0	0,70
> 500	"	0,61	51,5	0,66
<u>Acétanilide</u>				
100 - 200	1,222	0,54	56,2	0,68
200 - 315	"	0,54	56,2	0,67
315 - 400	"	0,54	56,2	0,68
400 - 500	"	0,55	55,3	0,66
> 500	"	0,55	55,3	0,65

III.1.2.4 Remplissage des capsules et caractéristiques

Pour tester l'influence de la grandeur des particules sur la libération, nous avons utilisé des capsules contenant toutes 290 mg de substance. En tenant compte des densités et porosités déterminées au chapitre III.1.2.3 et en connaissant le volume exact des capsules, nous avons calculé le volume d'air contenu dans la capsule après remplissage.

Le volume d'air total correspond au volume d'air contenu dans la poudre (= porosité) + le volume d'air libre entre la masse pulvérulente et l'enveloppe de la capsule (+ bulle d'air).

Tableau 8

Détermination du volume d'air contenu dans la capsule

Fractions [μm]	Volume d'air dans la poudre [ml]	Volume de la bulle d'air [ml]	Air total [%]
<u>Phénacétine</u>			
100 - 200	0,286	0,018	55,7
200 - 315	0,307	0,006	57,4
315 - 400	0,276	0,037	57,4
400 - 500	0,260	0,054	57,6
> 500	0,247	0,066	57,4
<u>Acétanilide</u>			
100 - 200	0,304	0,005	56,7
200 - 315	0,304	0,005	56,7
315 - 400	0,299	0,010	56,7
400 - 500	0,291	0,018	56,7
> 500	0,289	0,021	56,8

On constate que les petites particules remplissent presque totalement la capsule et que la bulle d'air est plus petite que pour les grandes. A partir de 315 μm , la poudre se tasse mieux et on observe nettement un espace vide (= bulle d'air). Cette bulle d'air croît avec la dimension des grains et lors des tests de dissolution, lorsque la capsule s'est solubilisée, l'air s'échappe de la cellule. Par contre, pour les petites particules, l'air incorporé dans la poudre ne peut s'échapper et il entoure celles-là pendant toute l'expérience.

Ces constatations peuvent expliquer partiellement les résultats inattendus des tests de dissolution en fonction de la grandeur des particules.

III.1.3 Résultats des tests de dissolution et calculs

Pour les tests de dissolution de la phénacétine sans adjuvants, il n'a pas été nécessaire de diluer la solution à analyser. Par contre, pour l'acétanilide seule, il a fallu diluer 10 à 20 fois selon les fractions utilisées.

Les résultats des tests de dissolution de la phénacétine et de l'acétanilide sans adjuvants, sont présentés respectivement dans les tableaux 9 et 10.

A titre d'exemple, le tableau 9 reproduit les résultats obtenus toutes les deux minutes. Le tableau 10 indique les valeurs et les écarts-type après 10, 20 et 30 minutes. Par la suite, tous les résultats seront présentés de cette dernière façon. Ils sont exprimés en pourcentage de substance dissoute.

*Influence de la grandeur des particules sur la libération de la phénacétine (P)
et de l'acétanilide (A) sans adjuvants [%]*

Temps [min]	63 - 100 μm		100 - 200 μm		200 - 315 μm		315 - 400 μm		400 - 500 μm		> 500 μm	
	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A
2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	1,1	0,0	0,1
6	0,3	0,7	0,2	0,5	0,1	0,9	0,1	5,9	0,1	4,9	0,2	1,4
8	0,5	3,4	0,4	3,5	0,3	5,0	0,4	15,4	0,3	11,3	0,4	4,5
10	0,8	6,7	0,8	9,1	0,6	13,3	0,9	25,4	0,6	18,9	0,7	9,0
12	1,2	10,1	1,2	16,6	1,0	22,3	1,4	33,6	0,9	24,0	1,0	13,7
14	1,6	13,4	1,6	23,9	1,4	30,0	1,9	40,1	1,3	29,6	1,4	18,6
16	2,0	16,1	1,9	30,2	1,8	35,6	2,5	45,0	1,7	34,7	1,8	23,9
18	2,4	18,1	2,3	35,2	2,1	39,9	3,1	48,7	2,1	39,3	2,2	29,0
20	2,8	19,8	2,7	39,4	2,5	43,3	3,7	51,7	2,5	43,4	2,6	34,1
22	3,1	21,2	3,1	42,4	2,8	46,1	4,3	54,3	2,9	47,1	3,1	38,2
24	3,4	22,6	3,4	44,9	3,1	48,5	5,0	56,8	3,3	50,7	3,5	41,7
26	3,7	23,8	3,7	47,1	3,4	50,6	5,6	59,0	3,6	53,9	3,9	44,9
28	4,0	25,0	4,0	48,7	3,6	52,6	6,2	62,0	4,0	57,0	4,4	48,0
30	4,3	27,0	4,3	50,5	3,8	55,0	6,8	63,5	4,4	59,8	4,9	51,5

Tableau 10

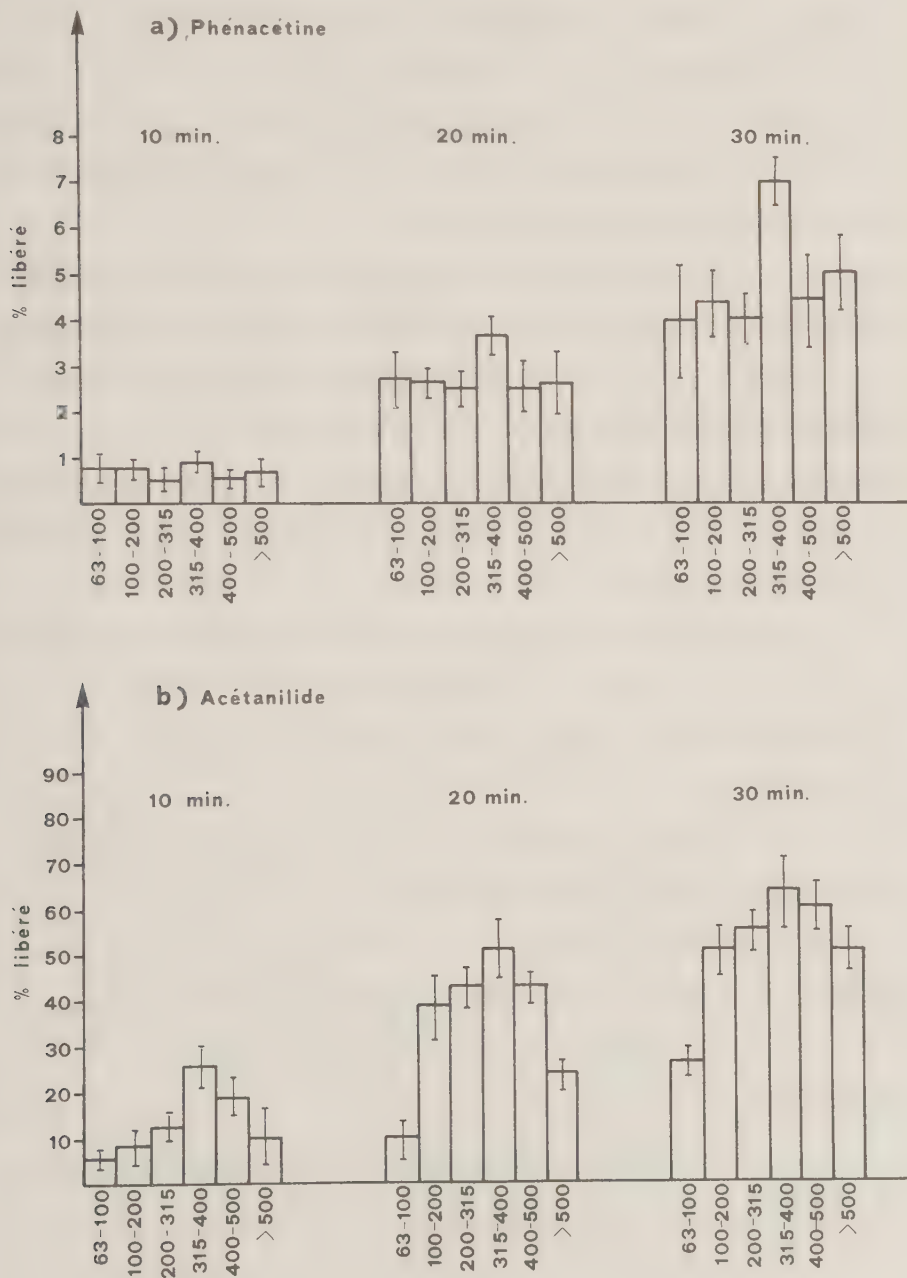
Influence de la grandeur des particules sur le pourcentage de phénacétine et d'acétanilide en solution

Fractions [μm]	10 min	20 min	30 min
P h é n a c é t i n e			
63 - 100	0,8 ($\pm$ 0,5)	2,8 ($\pm$ 0,6)	4,3 ($\pm$ 0,8)
100 - 200	0,8 ($\pm$ 0,1)	2,7 ($\pm$ 0,2)	4,3 ($\pm$ 0,5)
200 - 315	0,6 ($\pm$ 0,2)	2,5 ($\pm$ 0,4)	3,8 ($\pm$ 0,5)
315 - 400	0,9 ($\pm$ 0,2)	3,7 ($\pm$ 0,4)	6,8 ($\pm$ 0,6)
400 - 500	0,6 ($\pm$ 0,2)	2,5 ($\pm$ 0,6)	4,4 ($\pm$ 1,0)
> - 500	0,7 ($\pm$ 0,2)	2,6 ($\pm$ 0,5)	4,9 ($\pm$ 0,6)
A c é t a n i l i d e			
63 - 100	6,7 ($\pm$ 0,9)	19,8 ($\pm$ 1,7)	27,0 ($\pm$ 2,0)
100 - 200	9,1 ($\pm$ 3,5)	39,4 ($\pm$ 6,6)	50,5 ($\pm$ 5,1)
200 - 315	13,3 ($\pm$ 2,3)	43,3 ($\pm$ 4,1)	55,0 ($\pm$ 4,2)
315 - 400	25,4 ($\pm$ 5,5)	51,7 ($\pm$ 8,3)	63,5 ($\pm$ 8,8)
400 - 500	18,9 ($\pm$ 4,1)	43,4 ($\pm$ 2,8)	59,8 ($\pm$ 5,4)
> - 500	9,0 ($\pm$ 3,9)	34,1 ($\pm$ 1,1)	51,5 ($\pm$ 3,5)

La figure 4 groupe les résultats sous forme d'histogramme avec les limites de confiance ($P = 0,95$). Chaque résultat est la moyenne de 4 - 7 essais successifs.

Figure 4

Influence de la granulométrie sur la vitesse de libération



III.1.4 Conclusions et interprétation

Les résultats obtenus ne sont pas en accord avec la théorie qui prévoit une augmentation de la vitesse de dissolution avec la diminution de la taille des particules. Ils ne concordent pas non plus avec les conclusions de *Finholt*²³ qui a observé que la vitesse de dissolution croît avec la grandeur des particules pour les poudres hydrophobes.

Il faut remarquer que dans notre cas, nous testons non pas des poudres seules, mais des poudres incorporées dans des capsules et il y a d'autres phénomènes qui interviennent (porosité, gélatine, etc.). *Newton* et *Rowley*¹¹ ont observé que pour une même porosité, la libération à partir des capsules diminue avec la réduction des particules car l'espace entre les pores diminue également et l'accès du solvant est entravé. Ils n'ont pas testé par contre des poudres supérieures à 420 μm .

Les cinétiques de dissolution sont différentes pour la phénacétine et l'acétanilide, cette dernière étant moins hydrophobe.

Pour la phénacétine, les résultats des diverses fractions, excepté celle comprise entre 315 - 400 μm ne sont pas significativement différents. En effet, cette fraction se dissout plus vite que les autres après 10 minutes déjà.

Pour expliquer ces résultats, on peut émettre les hypothèses suivantes :

Les petites particules, très hydrophobes, restent agglomérées même après disparition de la gélatine; en fait, seule la couche extérieure participe à la dissolution car le

solvant ne pénétre pas.

A partir de 300 μm , les particules commencent à se détacher les unes des autres et tombent sur la grille inférieure de la cellule. C'est la surface effective des particules qui intervient alors dans la dissolution. Il est donc logique que les grains de 300 μm se dissolvent plus vite que ceux de 500 μm .

Pour l'acétanilide, on peut tirer les mêmes conclusions. La fraction 315 - 400 μm présente également la meilleure dissolution bien que la différence avec les autres fractions soit moins prononcée qu'avec la phénacétine.

Pour mieux interpréter les résultats de dissolution de l'acétanilide, nous avons appliqué un test statistique pour évaluer les différences observées.

III.1.5 Interprétation des résultats de l'acétanilide par le test de Scheffé⁵⁷

Un test de Fischer (F), effectué sur toutes les fractions utilisées, a prouvé avec une probabilité de 95% qu'elles n'avaient pas toutes la même vitesse de dissolution.

Pour comparer les fractions entre elles, nous avons choisi le test de Scheffé qui a l'avantage sur le test de Student (= test de t) de tenir compte de l'ensemble des résultats.

Pour que la différence observée entre deux fractions soit significative, il faut qu'elle soit supérieure à la différence $\hat{D}$ calculée selon la formule de Scheffé :

$$\hat{D} = S \cdot \sqrt{(a-1) \cdot F_{\alpha}^{a-1, v} \cdot \left(\frac{1}{n_m} + \frac{1}{n_l} \right)} \quad (6)$$

où:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}{v}} \quad \text{ou} \quad \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^a s_i^2}{a}}$$

a = nombre de moyennes

v = N - a

α = seuil de probabilité (0,5, 0,1, 0,01)

n_m = nombre d'observations de la m^{ème} moyenne

n_l = nombre d'observations de la l^{ème} moyenne

N = nombre total d'observations = $\sum_{i=1}^a n_i$

Tableau 11

*Comparaison des différences observées entre la fraction
315 - 400 μ m et les autres pour la dissolution de l'acétanilide*

Fractions [μ m]	10 min [%]	20 min [%]	30 min [%]
100 - 200	16,3 ***	11,8 **	13,0 *
200 - 315	12,1 ***	8,4 •	8,5 •
400 - 500	6,5 *	8,3 •	3,7 •
> 500	16,4 ***	17,6 ***	12,0 *

Les astérisques indiquent le degré de significativité :

* Valeur significative si d observé > $\hat{D}$ pour prob. = 0,05.

** Valeur très significative si d observé > $\hat{D}$ pour prob. = 0,01.

*** Valeur très fortement significative si d observé > $\hat{D}$ pour prob. = 0,001.

• Valeur non significative si d observé < $\hat{D}$ pour prob. = 0,05.

C'est donc avec les plus petites particules (100 - 200 μm) et avec les plus grandes ($> 500 \mu\text{m}$) que la fraction 315 - 400 μm présente le plus de différences, surtout au début de la dissolution (10 min). Il est assez logique que les différences soient le plus marquées dans les premières minutes, car à ce moment intervient le mouillage de la poudre. Au bout de 20 - 30 minutes, la masse de poudre s'est presque complètement désagrégée, la gélatine a disparu et les différences entre les fractions ont tendance à s'estomper.

III.2 Influence d'adjuvants hydrophiles introduits dans la capsule

III.2.1 Introduction

L'étude du rôle de la taille des particules a montré que les principes actifs hydrophobes, sans adjuvants dans les capsules, se dissolvaient lentement, même après disparition de l'enveloppe de gélatine. On peut ainsi supposer qu'à une telle formulation correspond une biodisponibilité peu élevée.

On sait que la présence d'adjuvants peut modifier fortement la libération d'un principe actif à partir d'une capsule^{4,9,12}; pourtant, la nature de la modification est souvent controversée^{16,17}. Certains auteurs^{14,15,18} ont étudié l'influence de l'adjonction simultanée de plusieurs adjuvants (diluant, lubrifiant, mouillant, etc.) sans pouvoir tirer des conclusions définitives car l'influence de chaque facteur dépend de la présence des autres et n'est pas simplement additive.

D'autre part, si la présence d'adjuvants hydrophiles améliore la biodisponibilité de substances peu solubles, on peut alors espérer diminuer leur dose, ce qui serait un avantage pour le malade.

Disposant d'un appareillage automatique permettant d'effectuer beaucoup d'essais sans calculs fastidieux, nous avons pu tester un grand nombre de formulations en faisant varier la concentration en adjuvant hydrophile (diluant) et la grandeur des particules.

III.2.2 Préparation des capsules

III.2.2.1 Choix des adjuvants

Parmi les adjuvants hydrophiles fréquemment utilisés pour les capsules, notre choix s'est tout d'abord porté sur le lactose (Ph. Helv. VI, Siegfried, Zofingue). Nous n'avons pas voulu tester les différents amidons, car ils auraient gênés le dosage (solutions troubles) et modifient trop la viscosité autour du principe actif (formation d'empois).

Pour étudier l'influence de la solubilité ou de l'hydrophilie des adjuvants, nous avons encore choisi le maltose (D(+)) Maltosum purum, Siegfried, Zofingue), plus soluble que le premier sucre testé.

Tableau 12

Caractéristiques des adjuvants testés

	Lactose	Maltose
Solubilité* dans HCl pH 1,2 37° [g/100 ml]	32	133
Densité réelle*	1,52	1,53
Dimensions*	2 à 5 µm + fragments de 50 µm	10 - 15 µm

* Déterminées dans notre laboratoire selon les techniques décrites précédemment.

En plus de leur solubilité différente, ces deux sucres ne présentent pas des cristaux de mêmes dimensions. Le lactose est plus fin que le maltose, à part quelques fragments de 50 µm environ. Le maltose lui, ne contient pas de particules supérieures à 15 µm.

Il faudra tenir compte de cette différence pour l'interprétation des résultats.

III.2.2.2 Mélange des poudres

Pour mélanger les principes actifs et les adjuvants, nous avons utilisé un homogénéisateur tridimensionnel (Turbula T₂, W.A. Bachofen Maschinenfabrik, CH-Bâle).

Les conditions opératoires ont été choisies d'après un travail de *Sinay* et *Tawashi*⁵⁸ qui ont étudié l'influence des facteurs dynamiques et géométriques de l'appareil sur les qualités du mélange.

Les grandes vitesses de rotation (60 et 75 tpm) produisent une centrifugation des particules, il y a plus ségrégation qu'homogénéisation. Par contre, avec 25 tpm, le système se stabilise après 900 révolutions.

Le temps d'homogénéisation diminue lorsque l'espace libre augmente et les meilleurs résultats sont obtenus en travaillant dans une zone d'espace libre comprise entre 40 et 60%.

Conditions opératoires choisies :

Vitesse de rotation : 25 tpm
Espace résiduel : environ 50%
Durée d'agitation : 1 heure

III.2.2.3 Choix des formules

Pour les premiers essais avec adjuvant, nous avons examiné pour les deux principes actifs, la fraction 200 - 315 μm .

Les deux substances sont mélangées successivement avec 2, 5, 10, 20 et 50% de lactose ou de maltose.

Afin de constater une éventuelle influence combinée de la grandeur des particules et des adjuvants, des fractions supérieures et inférieures ont encore été testées avec différentes concentrations de lactose.

III.2.2.4 Propriétés physiques des mélanges

La présence de lactose ou de maltose modifie les densités de décharge et de "tassement" des deux principes actifs.

Les mélanges de poudre n'occupent alors plus le même espace dans la capsule que le médicament seul. Comme les adjuvants sont beaucoup plus fins que les principes actifs, ils s'intercalent entre les autres particules et le mélange occupe pour cette raison un volume plus petit.

C'est à partir d'une concentration de 20% en adjuvant que l'on observe des différences de volume significatives.

Après avoir déterminé les densités de décharge et de tassage des poudres, nous avons calculé le poids à introduire dans la capsule pour que toutes les formules occupent le même volume. Pour les mélanges contenant 20 et 50% de sucre, les poids respectifs sont de 316 et 346 mg, alors que le contenu des capsules est de 290 mg pour les autres formules.

Tableau 13

*Densités des mélanges de phénacétine et d'acétanilide avec
différentes concentrations de lactose et de maltose*

Formules	Densité de décharge ρ_d	Densité de tassage	Volume [ml] occupé par		
			290 mg	316 mg	346 mg
Phénacétine 200 - 315 μ m	0,54	0,68	0,43	—	—
Lactose	0,45	0,85			
Phénacétine + 10% lactose	0,55	0,69	0,42	—	—
20% "	0,55	0,73	0,40	0,43	—
50% "	0,53	0,80	0,36	0,40	0,43
Maltose	0,53	0,77			
Phénacétine + 10% maltose	0,54	0,69	0,42	—	—
20% "	0,55	0,70	0,41	0,44	—
50% "	0,57	0,80	0,36	0,40	0,43
Acétanilide 200 - 315 μ m	0,54	0,67	0,43	—	—
Acétanilide + 10% lactose	0,52	0,67	0,43	—	—
20% "	0,57	0,75	0,39	0,42	—
50% "	0,58	0,83	0,35	0,40	0,42
Acétanilide + 10% maltose	0,50	0,64	0,43	—	—
20% "	0,50	0,69	0,42	0,44	—
50% "	0,53	0,74	0,40	0,42	0,46

La densité après tassage augmente avec la proportion d'adjuvant. La densité de décharge en revanche, est peu modifiée. Le lactose, de volume apparent élevé se tasse facilement, contrairement au maltose, dont les cristaux sont plus gros. D'autre part, son volume apparent est plus petit que celui du lactose. Les principes actifs mélangés avec des sucres perdent en partie leurs propriétés électrostatiques et de ce fait ont moins tendance à adhérer aux parois du cylindre gradué lors des déterminations de densité. La densité de décharge reste une valeur subjective et c'est la raison pour laquelle certains résultats sont difficilement explicables.

III.2.3 Résultats et interprétation des tests de dissolution

La présence de lactose ou de maltose augmente immédiatement la vitesse de dissolution de la phénacétine et de l'acétanilide, de sorte qu'il a fallu diluer les solutions à analyser.

Nous passons successivement en revue l'influence du lactose et du maltose sur la vitesse de dissolution des deux principes actifs. Nous étudions également l'influence combinée des adjuvants et de la dimension des particules de la phénacétine et de l'acétanilide.

III.2.3.1 Influence du lactose sur la dissolution de la phénacétine

Le tableau 14 et les figures 5 à 8 présentent les résultats en fonction du pourcentage de lactose ajouté à différentes fractions de phénacétine.

Tableau 14

Influence de la concentration en lactose sur la vitesse de libération de la phénacétine

Lactose [%]	% libéré		
	10 min	20 min	30 min
F r a c t i o n 100 - 200 μ m			
0	0,8 ($\pm$ 0,1)	2,7 ($\pm$ 0,2)	4,3 ($\pm$ 0,5)
10	5,1 ($\pm$ 1,5)	27,5 ($\pm$ 2,4)	48,8 ($\pm$ 1,5)
20	13,9 ($\pm$ 1,8)	36,0 ($\pm$ 5,0)	56,3 ($\pm$ 6,8)
50	14,3 ($\pm$ 1,6)	32,9 ($\pm$ 3,6)	47,3 ($\pm$ 5,8)
F r a c t i o n 200 - 315 μ m			
0	0,6 ($\pm$ 0,2)	2,5 ($\pm$ 0,4)	3,8 ($\pm$ 0,5)
2	1,6 ($\pm$ 0,5)	6,0 ($\pm$ 0,9)	9,0 ($\pm$ 1,3)
5	1,5 ($\pm$ 0,6)	10,1 ($\pm$ 1,2)	21,3 ($\pm$ 3,3)
10	6,5 ($\pm$ 2,4)	28,3 ($\pm$ 4,3)	49,0 ($\pm$ 4,3)
20	15,9 ($\pm$ 1,4)	39,1 ($\pm$ 2,8)	57,0 ($\pm$ 4,7)
50	14,7 ($\pm$ 1,8)	35,9 ($\pm$ 4,1)	53,4 ($\pm$ 7,0)
F r a c t i o n 315 - 400 μ m			
0	0,9 ($\pm$ 0,2)	3,7 ($\pm$ 0,4)	6,8 ($\pm$ 0,6)
2	1,3 ($\pm$ 0,3)	7,8 ($\pm$ 0,6)	15,9 ($\pm$ 1,3)
10	8,3 ($\pm$ 1,6)	30,0 ($\pm$ 3,2)	49,8 ($\pm$ 4,0)
20	10,7 ($\pm$ 1,4)	34,1 ($\pm$ 5,4)	59,6 ($\pm$ 7,2)
F r a c t i o n 400 - 500 μ m			
0	0,6 ($\pm$ 0,2)	2,5 ($\pm$ 0,6)	4,4 ($\pm$ 1,0)
5	2,3 ($\pm$ 1,0)	12,7 ($\pm$ 2,0)	26,2 ($\pm$ 2,6)
10	6,4 ($\pm$ 2,0)	19,0 ($\pm$ 2,6)	31,5 ($\pm$ 3,3)
20	9,3 ($\pm$ 2,3)	28,6 ($\pm$ 3,9)	47,3 ($\pm$ 4,5)

Figure 5

Influence du lactose sur la vitesse de libération de la
phénacétine 100 - 200 μm

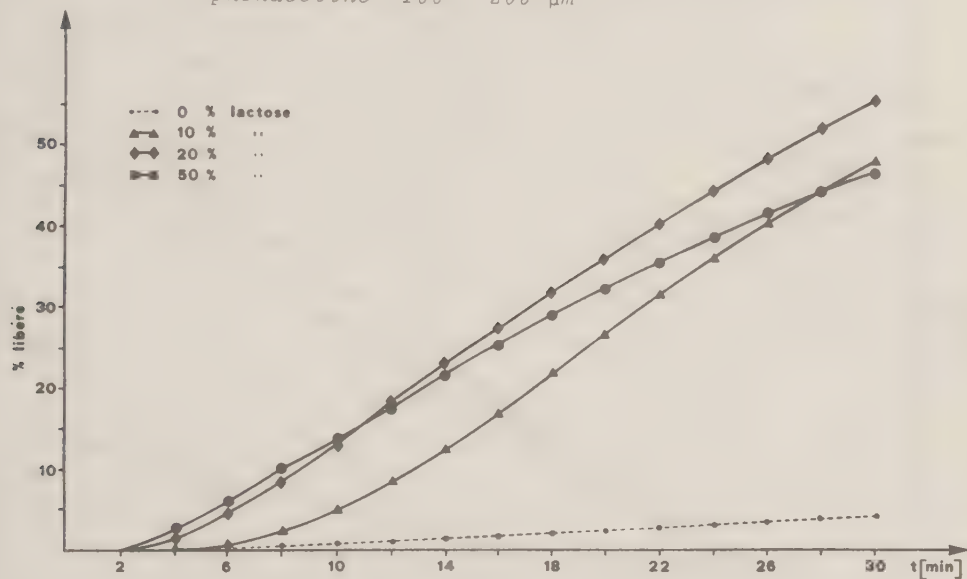


Figure 6

Influence du lactose sur la vitesse de libération de la
phénacétine 200 - 315 μm

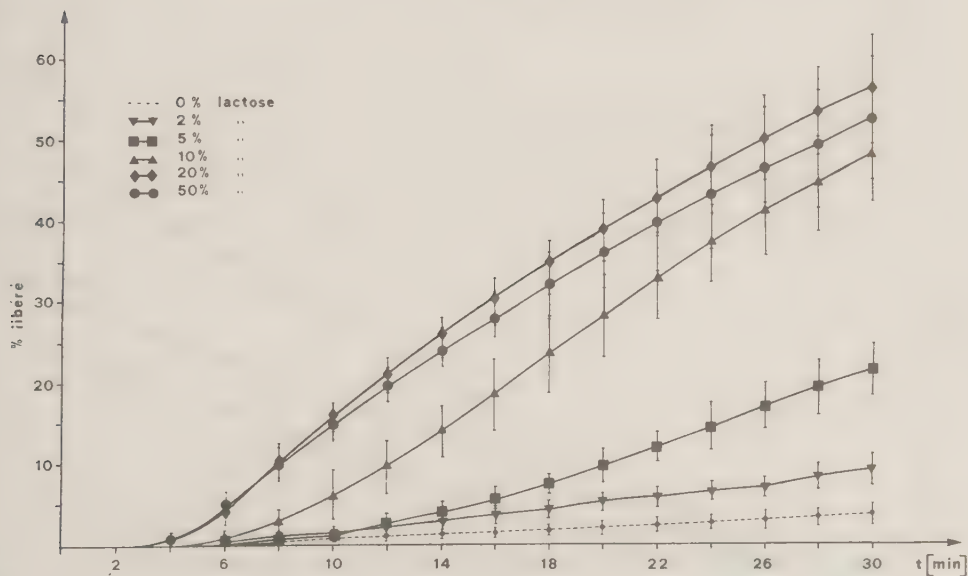


Figure 7

Influence du lactose sur la vitesse de libération de la
phénacétine 315 - 400 μm

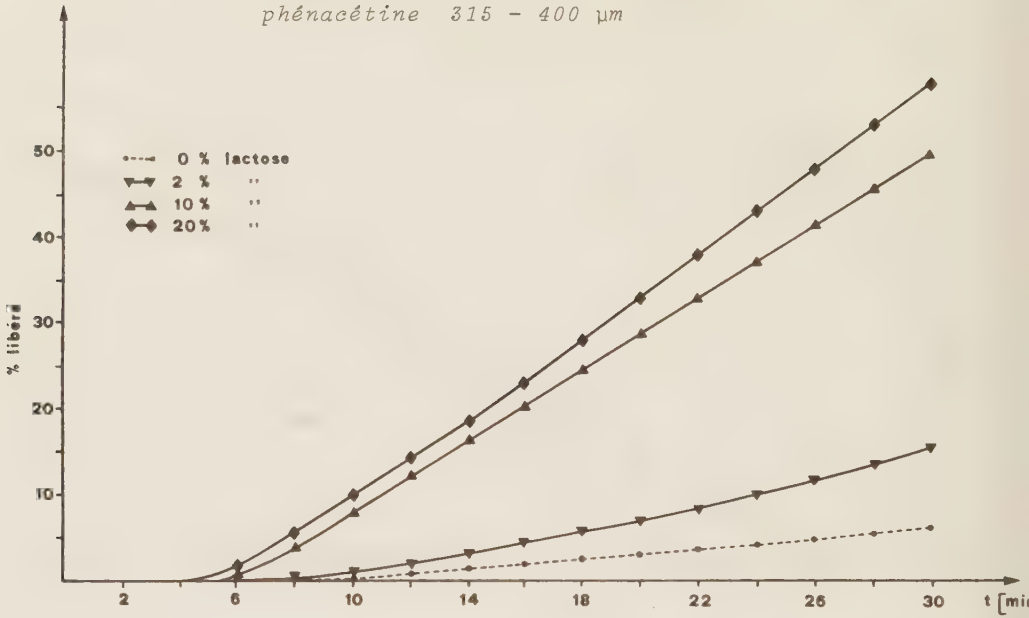
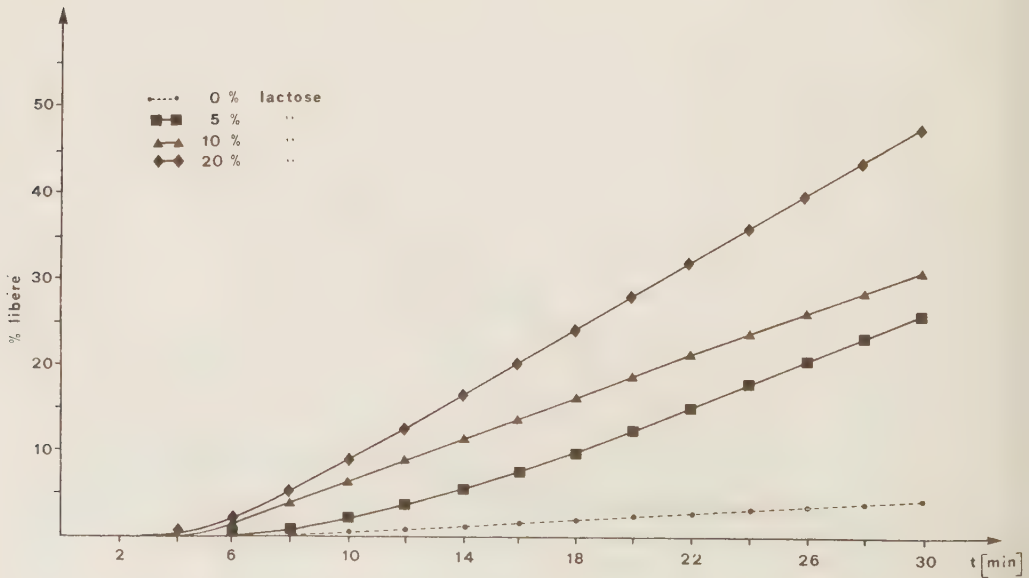


Figure 8

Influence du lactose sur la vitesse de libération de la
phénacétine 400 - 500 μm



Ces résultats montrent aisément que l'adjonction de lactose, même en faible quantité (2%), améliore la libération de la phénacétine à partir de capsules gélatineuses dures.

Avec la présence de 2% de lactose, le pourcentage de phénacétine en solution après 5 minutes déjà, est environ 2 fois plus élevé que sans cet adjuvant.

En augmentant la concentration du lactose jusqu'à 20%, on accélère la dissolution au maximum; en effet, une concentration supérieure (50%) n'augmente plus la libération de la phénacétine.

Les différences observées entre les formules contenant 10 et 20% de sucre, sont plus importantes au début de la dissolution. Après 20 et 30 minutes, les résultats sont pratiquement semblables, ce qui est logique : le lactose modifie les propriétés hydrophobes de la phénacétine et améliore considérablement son mouillage. C'est donc surtout au début de la dissolution que la quantité de lactose joue un rôle. Une fois que le solvant a pénétré dans la masse de poudre, les différences ont tendance à s'estomper.

Le tableau 15, de même que les figures 9 et 10 comparent les résultats obtenus précédemment avec respectivement 10 et 20% de lactose en fonction de la grandeur des particules de phénacétine.

Tableau 15

Influence de la grandeur des particules sur le pourcentage de phénacétine en solution en présence de 10 et 20% de lactose

Fractions [μm]	10 min	20 min	30 min
10% l a c t o s e			
100 - 200	5,1 ($\pm$ 1,5)	27,5 ($\pm$ 2,4)	48,8 ($\pm$ 1,5)
200 - 315	6,5 ($\pm$ 2,4)	28,3 ($\pm$ 4,3)	49,0 ($\pm$ 4,3)
315 - 400	8,3 ($\pm$ 1,6)	30,0 ($\pm$ 3,2)	49,8 ($\pm$ 4,0)
400 - 500	6,4 ($\pm$ 2,0)	19,0 ($\pm$ 2,6)	31,5 ($\pm$ 3,3)
20% l a c t o s e			
100 - 200	13,9 ($\pm$ 1,8)	36,0 ($\pm$ 5,0)	56,3 ($\pm$ 6,8)
200 - 315	15,9 ($\pm$ 1,4)	39,1 ($\pm$ 2,8)	57,0 ($\pm$ 4,7)
315 - 400	10,7 ($\pm$ 1,4)	34,1 ($\pm$ 5,4)	59,6 ($\pm$ 7,2)
400 - 500	9,3 ($\pm$ 2,3)	28,6 ($\pm$ 3,9)	47,3 ($\pm$ 4,5)

Figure 9

*Vitesse de libération de différentes fractions de
phénacétine en présence de 10% de lactose*

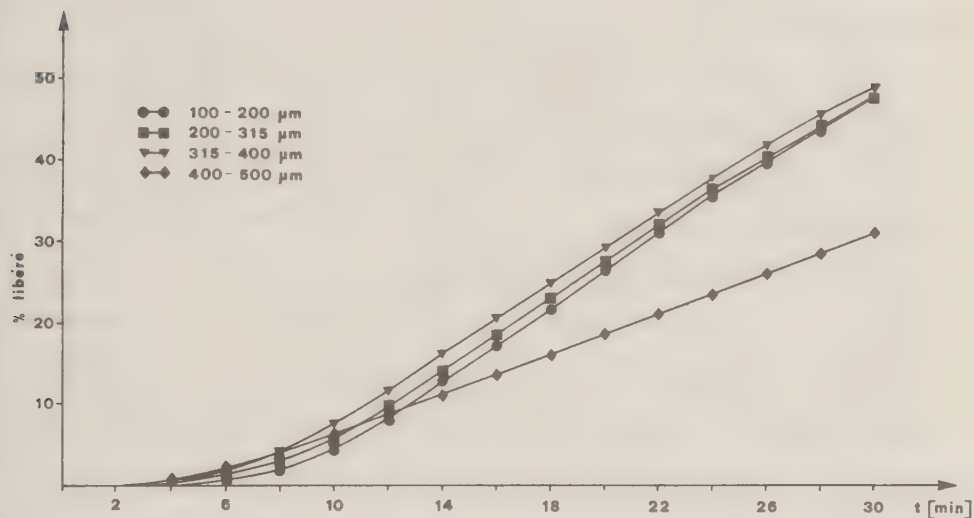
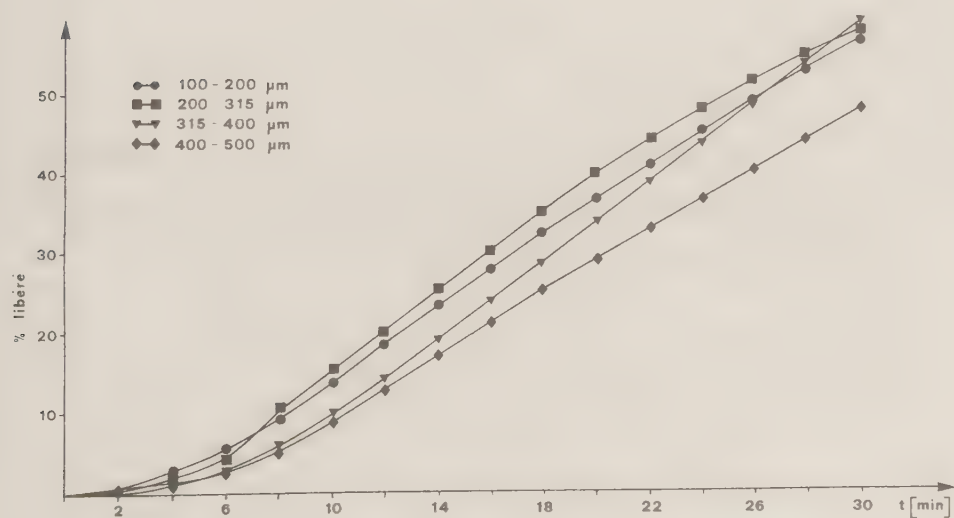


Figure 10

*Vitesse de libération de différentes fractions de
phénacétine en présence de 20% de lactose*



D'après ce tableau et ces graphiques, on remarque que l'adjonction de lactose supprime partiellement les différences observées entre les grandeurs de particules (voir tabl.10). En effet, avec cet adjuvant, la fraction 315 - 400 μm ne se dissout pas plus vite que les autres. Par contre, on observe que les particules de 400 - 500 μm soit avec 10%, soit avec 20% de lactose se dissolvent moins vite que les plus petites avec les mêmes concentrations d'adjuvant.

L'hypothèse suivante peut expliquer ce phénomène : le lactose a moins d'importance pour le mouillage des grandes particules, car celles-ci sont relativement lourdes et ne restent pas agglomérées entre elles pendant la dissolution, mais elles se détachent les unes des autres et tombent sur la grille inférieure de la cellule de dissolution. La surface effective des particules est alors le facteur principal qui intervient dans le processus de dissolution.

III.2.3.2 Influence du lactose sur la dissolution de l'acétanilide

Le tableau 16 et les figures 11, 12, 13, présentent les résultats en fonction du pourcentage de lactose ajouté à différentes fractions d'acétanilide.

Tableau 16

Influence de la concentration en lactose sur la vitesse de libération de l'acétanilide

Lactose [%]	% libéré		
	10 min	20 min	30 min
F r a c t i o n 63 - 100 μ m			
0	6,7 ($\pm$ 0,9)	19,8 ($\pm$ 1,7)	27,0 ($\pm$ 2,0)
5	8,5 ($\pm$ 1,0)	16,6 ($\pm$ 1,1)	24,0 ($\pm$ 1,9)
10	16,9 ($\pm$ 2,6)	30,9 ($\pm$ 3,8)	40,8 ($\pm$ 3,8)
F r a c t i o n 200 - 315 μ m			
0	13,3 ($\pm$ 2,4)	43,3 ($\pm$ 4,3)	54,5 ($\pm$ 4,2)
2	29,3 ($\pm$ 8,0)	57,5 ($\pm$ 7,5)	68,2 ($\pm$ 6,0)
5	40,4 ($\pm$ 7,2)	75,8 ($\pm$ 7,6)	85,3 ($\pm$ 7,8)
10	51,7 ($\pm$ 6,9)	82,6 ($\pm$ 7,1)	90,6 ($\pm$ 8,3)
20	49,3 ($\pm$ 3,0)	74,8 ($\pm$ 4,4)	84,0 ($\pm$ 4,9)
50	48,7 ($\pm$ 5,7)	84,4 ($\pm$ 7,0)	96,0 ($\pm$ 8,5)
F r a c t i o n 315 - 400 μ m			
0	25,4 ($\pm$ 5,6)	51,7 ($\pm$ 8,3)	64,9 ($\pm$ 8,8)
5	31,8 ($\pm$ 5,7)	66,0 ($\pm$ 4,2)	82,0 ($\pm$ 5,2)
10	29,7 ($\pm$ 4,4)	61,4 ($\pm$ 9,0)	78,1 ($\pm$ 8,6)
20	53,3 ($\pm$ 5,4)	84,5 ($\pm$ 7,2)	98,4 ($\pm$ 3,9)

Figure 11

*Influence du lactose sur la vitesse de libération de
l'acétanilide 63 - 100 μm*

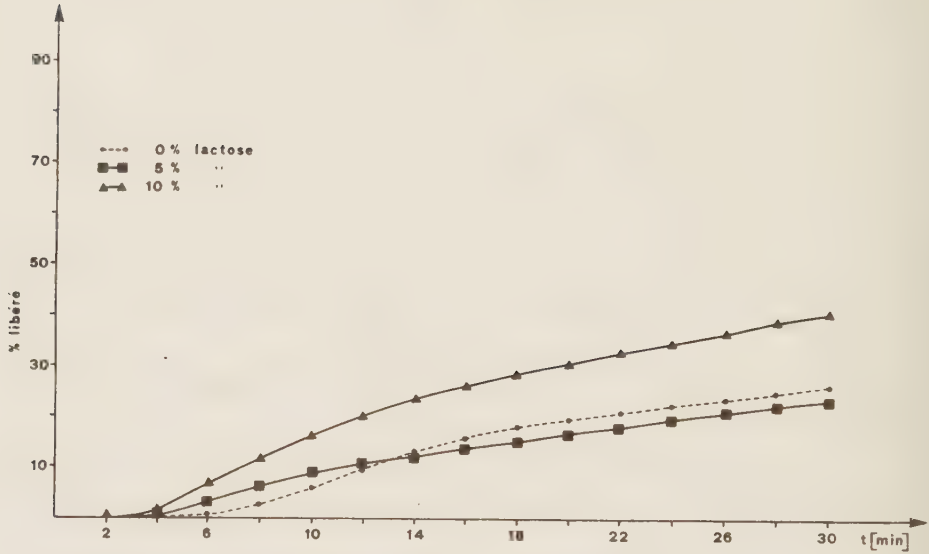


Figure 12

*Influence du lactose sur la vitesse de libération de
l'acétanilide 200 - 315 μm*

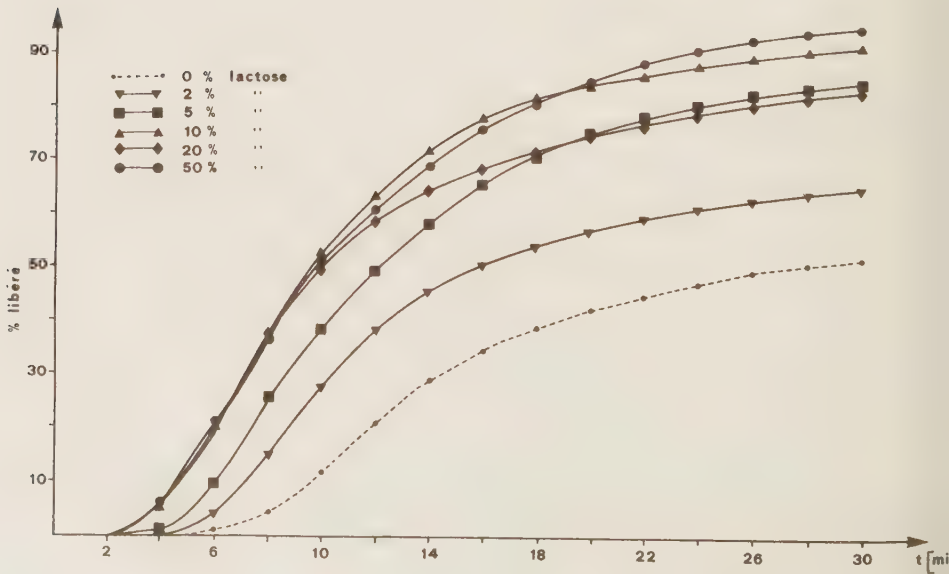
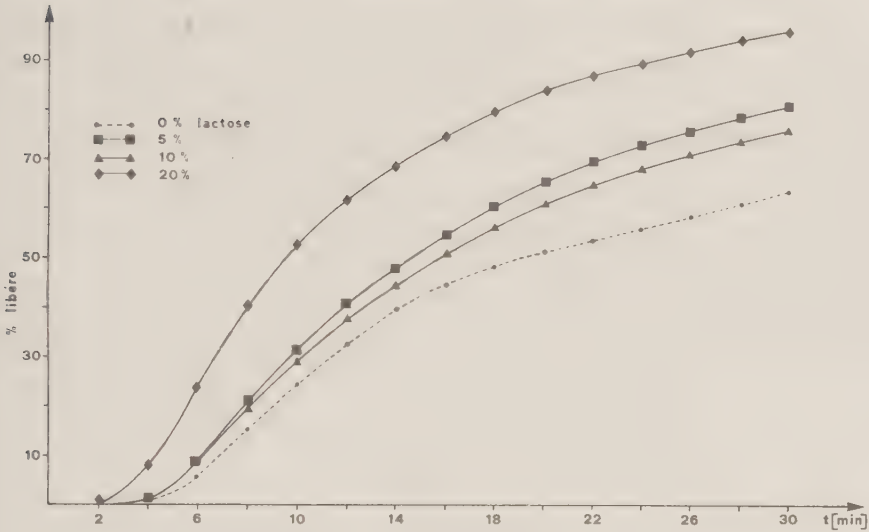


Figure 13

*Influence du lactose sur la vitesse de libération de
l'acétanilide 315 - 400 μ m*



Les résultats sont moins reproductibles avec ce principe actif qu'avec la phénacétine, en raison des nombreuses dilutions rendues nécessaires par sa plus grande solubilité. Le lactose produit une augmentation incontestable de la vitesse de dissolution de l'acétanilide, mais moins spectaculaire qu'avec la phénacétine. Ceci est logique, car l'acétanilide est plus soluble que la phénacétine : elle est plus hydrophile et a moins tendance à s'agglomérer. Le lactose est donc moins utile pour acheminer le solvant jusqu'au principe actif.

On n'observe pas de différence significative entre les formules contenant 5, 10, 20 et 50% de lactose, le maximum d'augmentation est déjà atteint avec 5%, sauf pour la fraction 63 - 100 μ m.

Comme pour la phénacétine, le lactose a effacé les différences observées entre les fractions 200 - 315 μm et 315 - 400 μm sans adjuvant (voir tabl. 10).

Pour la fraction 63 - 100 μm par contre, la présence de 5 et 10% de lactose n'est pas suffisante pour supprimer les différences observées précédemment avec les autres fractions sans adjuvant (voir tabl. 10). Pour de si fines particules, de plus grandes quantités d'adjuvant sont nécessaires pour améliorer leur dissolution afin que les grains de principe actif, très nombreux du fait de leur taille, ne restent pas agglomérés entre eux.

III.2.3.3 Influence du maltose sur la dissolution de la phénacétine

En utilisant un sucre plus soluble que le lactose, nous pensions augmenter encore la vitesse de la libération de la phénacétine. Comme le montrent le tableau 17 et la figure 14, les résultats ne confirment pas cette hypothèse.

Le pourcentage de phénacétine dissoute après 30 minutes étant relativement faible, nous avons poursuivi les expériences pendant 40 minutes pour tous les essais phénacétine + maltose.

Pour limiter les expériences, seule la fraction 200 - 315 μm avec différentes concentrations de maltose est testée (tabl. 17, fig. 14).

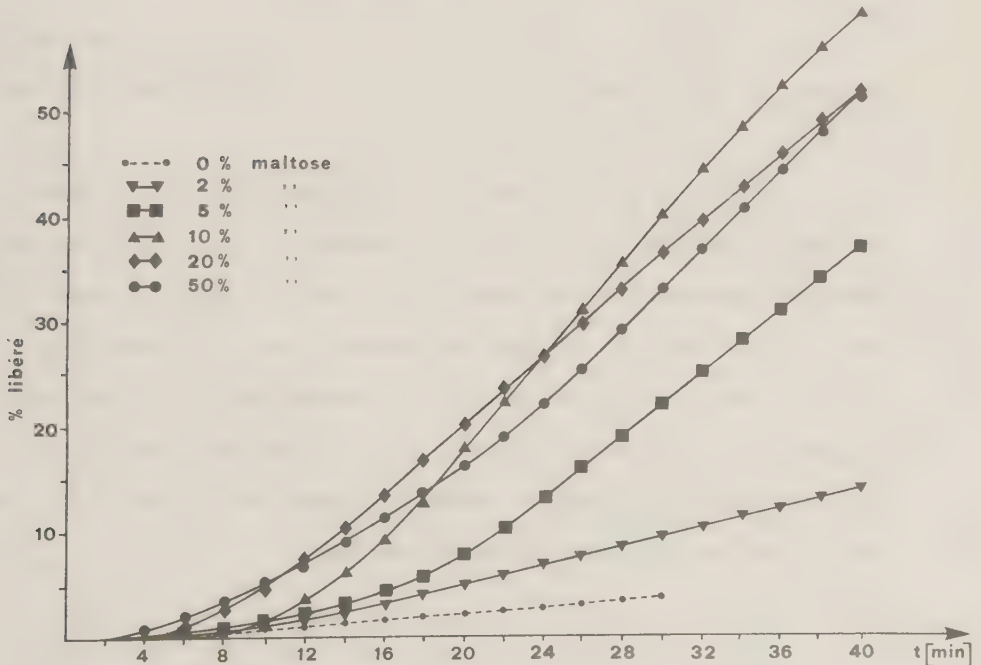
Tableau 17

Influence de la concentration en maltose sur la vitesse de libération de la phénacétine [%], pour la fraction 200 - 315 μ m

maltose [%]	10 min	20 min	30 min	40 min
0	0,6 ($\pm$ 0,2)	2,5 ($\pm$ 0,4)	3,8 ($\pm$ 0,5)	—
2	1,2 ($\pm$ 0,2)	4,7 ($\pm$ 0,1)	9,4 ($\pm$ 0,7)	14,1 ($\pm$ 1,2)
5	1,2 ($\pm$ 0,6)	7,8 ($\pm$ 1,7)	22,0 ($\pm$ 1,5)	36,8 ($\pm$ 3,8)
10	1,7 ($\pm$ 0,5)	18,1 ($\pm$ 2,1)	40,0 ($\pm$ 2,6)	59,1 ($\pm$ 7,0)
20	5,2 ($\pm$ 1,8)	20,1 ($\pm$ 4,1)	36,7 ($\pm$ 5,9)	51,1 ($\pm$ 7,0)
50	5,3 ($\pm$ 1,4)	16,0 ($\pm$ 4,1)	33,0 ($\pm$ 6,4)	51,2 ($\pm$ 9,0)

Figure 14

Influence du maltose sur la vitesse de libération de la phénacétine 200 - 315 μ m



On remarque que le maltose améliore également la dissolution de la phénacétine, mais qu'après 10 minutes, contrairement au lactose, cette amélioration est encore faible. Les résultats avec 20 et 50% de cet adjuvant sont peu reproductibles mais apparemment peu différents. Avec 2 et 5% de maltose, on obtient les mêmes valeurs qu'avec le lactose après 30 minutes. En revanche, la moyenne des trois courbes obtenues avec 10, 20 et 50% qui ne sont pas significativement différentes, est nettement plus basse qu'avec le lactose.

Les hypothèses suivantes expliqueraient que le maltose, quatre fois plus soluble que le lactose, est moins efficace que ce dernier. Les cristaux des deux sucres ne sont pas de même taille. Le lactose, plus fin que le maltose, est en contact plus intime avec le principe actif et favorise plus le passage du solvant jusqu'au médicament.

D'autre part le maltose, très soluble et hydrophile, utilise la plus grande partie du solvant au début de la dissolution en défaveur du principe actif.

La viscosité des solutions saturées de ces deux sucres est également différente. Déterminée avec le viscosimètre Epprecht-Rheomat-15 (Contraves A.G., Zurich) à la vitesse 15, une solution saturée de maltose présente une viscosité de 8,1 cP, tandis que le lactose à la concentration de saturation n'a qu'une viscosité de 4,3 cP. Cette viscosité plus élevée pourrait alors retarder la mise en contact du solvant avec les particules de la substance médicamenteuse.

III.2.3.4 Influence du maltose sur la dissolution de
l'acétanilide

Comme pour la phénacétine, nous n'avons testé que la fraction 200 - 315 μ m avec différentes concentrations de maltose, (tabl. 18 et fig. 15). L'acétanilide étant beaucoup plus soluble que la phénacétine, il n'a pas été nécessaire de poursuivre les essais au-delà de 30 minutes.

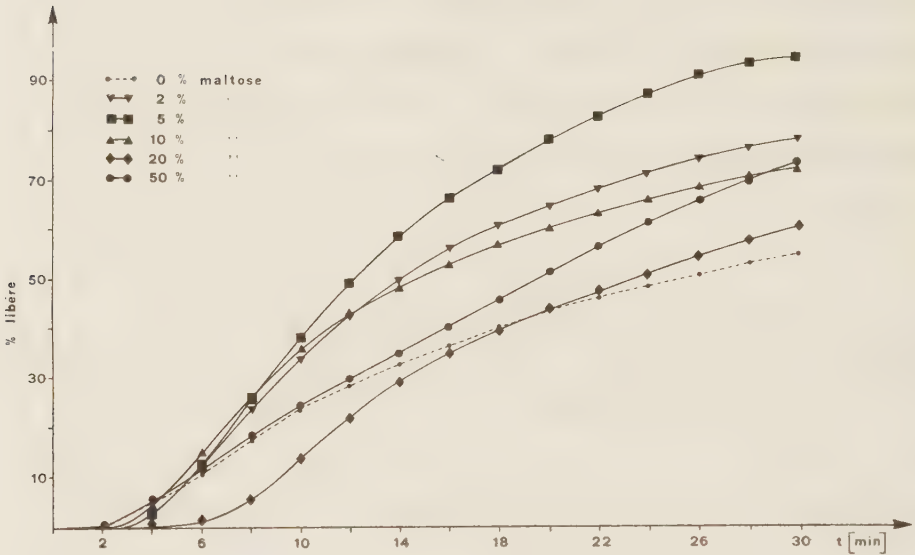
Tableau 18

Influence de la concentration en maltose sur la vitesse de libération de l'acétanilide [%], pour la fraction 200 - 315 μ m

Maltose [%]	10 min	20 min	30 min
0	13,3 (+ 2,3)	43,3 (+ 4,1)	55,0 (+ 4,0)
2	33,2 (+ 5,5)	64,4 (+ 7,0)	77,6 (+ 5,2)
5	38,0 (+ 4,9)	77,7 (+ 8,1)	95,0 (+ 6,2)
10	35,2 (+ 4,5)	59,2 (+ 6,1)	71,9 (+ 5,7)
20	23,4 (+ 3,8)	43,1 (+ 6,4)	59,6 (+10,1)
50	24,6 (+ 4,8)	51,2 (+ 9,2)	72,4 (+10,5)

Figure 15

*Influence du maltose sur la vitesse de libération de
l'acétanilide 200 - 315 μ m*



Les résultats obtenus avec 2 et 5% de maltose sont très peu différents de ceux de l'acétanilide avec les mêmes concentrations de lactose (voir tabl. 16, fig. 11).

Avec des concentrations supérieures de maltose, on remarque tout d'abord qu'il n'y a pas de différences significatives entre les formules contenant 10, 20 et 50% d'adjuvant. En revanche, avec de telles concentrations de maltose, on n'améliore pas la libération de l'acétanilide par rapport à 5%; au contraire, il semble que la quantité de principe actif en solution est plus élevée avec 5% de sucre qu'avec les concentrations supérieures.

Encore une fois, on peut penser que cet adjuvant est trop hydrophile pour que des concentrations élevées favorisent la dissolution d'un principe actif hydrophobe.

Tous les résultats de cette série sont malheureusement assez peu reproductibles à cause des dilutions élevées rendues nécessaires par la solubilité des formules.

III.3 Influence d'un agent tensio-actif introduit dans le milieu de dissolution

III.3.1 Aspect théorique

On sait depuis longtemps que certaines substances présentes dans le tractus gastro-intestinal facilitent la dissolution des médicaments⁵⁹. L'adjonction de sels biliaires de même que de lysolécithine dans l'eau améliorent *in vitro* la dissolution de substances hydrophobes en favorisant leur mouillage^{60,61}.

La pepsine et la mucine, également présentes dans les sucs digestifs, ne possèdent par contre pas de propriétés tensio-actives et n'augmentent pas *in vitro* la vitesse de la dissolution des principes actifs hydrophobes⁵⁹.

Finholt et Solvang⁶² ont étudié les propriétés du suc gastrique humain. Sa tension superficielle indépendante du pH est de 35 - 50 dyn cm⁻¹. Ces auteurs ont démontré que la vitesse de dissolution de la phénacétine est semblable dans les sucs gastriques naturel et artificiel si ces deux milieux ont le même pH et la même tension superficielle. Ils ont trouvé également une corrélation linéaire entre la tension superficielle du milieu de

dissolution et le temps nécessaire pour dissoudre 100 mg de phénacétine avec des concentrations croissantes de Tween^R 80. Par contre, ce dernier ne modifie pas la solubilité de ce principe actif.

L'influence des agents tensio-actifs sur les vitesses de dissolution de substances hydrophobes s'explique par plusieurs mécanismes⁵⁹. Le tensio-actif favorise le mouillage du principe actif en diminuant l'énergie interfaciale entre celui-ci et le milieu de dissolution et en augmentant la surface disponible de la substance solide.

Avec des concentrations élevées de tensio-actifs (supérieures à la concentration micellaire critique), la solubilité peut être augmentée grâce au phénomène de "solubilisation micellaire". La solution est alors saturée par des monomères de tensio-actifs en équilibre avec les agrégats micellaires⁶³.



D_M = concentration du médicament dans la micelle

D_{NM} = concentration du médicament dans la phase non micellaire

La solubilité est alors fonction des paramètres de diffusion et des lois hydrodynamiques du système.

Peu d'études sont consacrées aux effets des tensio-actifs en concentration prémicellaire sur la vitesse de dissolution de principes actifs à partir de poudres ou de formes galéniques solides.

D'après les travaux de *Caldwell*¹⁹ et ceux de *Weintraub* et *Gibaldi*⁵⁹, l'action des tensio-actifs semble plus marquée pour des substances incorporées dans des comprimés plutôt que dans des capsules.

L'adjonction d'un agent mouillant dans le milieu de dissolution entraîne parfois de meilleures corrélations *in vitro* - *in vivo*; elle n'a cependant jamais été préconisée systématiquement pour tous les tests de libération.

III.3.2 *Partie expérimentale*

III.3.2.1 *Choix du tensio-actif*

Nous avons d'emblée éliminé la possibilité d'ajouter un agent mouillant directement dans la capsule. En effet, des substances telles que le laurylsulfate de sodium sont toxiques par voie interne et leur emploi n'est justifié que pour des essais *in vitro*, avec des formules particulièrement hydrophobes, contenant par exemple un lubrifiant (stéarate de Mg, etc.)

Les tensio-actifs physiologiques les plus fréquemment ajoutés au milieu de dissolution, sont les sels biliaires, la lécithine, la lysolécithine ou d'autres esters des acides phosphatidiques (sérine, etc.). Ces substances ont l'inconvénient d'être coûteuses et leur pureté n'est pas toujours satisfaisante.

Parmi les agents mouillants de synthèse, nous avons opté pour le Tween^R 80 (= monoléylpolysorbitanne, Siegfried S.A., CH-4800 Zofingue) qui a déjà fait l'objet de plusieurs études^{62, 64, 65}.

III.3.2.2 Détermination de la tension superficielle du milieu de dissolution

La C.M.C. du Tween^R 80 en solution aqueuse a été déterminée par Kakemi et coll.⁶⁶; d'après ces auteurs, elle correspond à une concentration voisine de 0,01%.

En ajoutant des concentrations croissantes de Tween^R 80 au suc gastrique artificiel et en mesurant la tension superficielle, nous avons essayé de déterminer la région de la C.M.C. dans ce milieu. Toutes les mesures ont été faites à 37° avec un tensiomètre interfacial de Lecomte du Noüy (K 8600 A. Kruss, Hambourg).

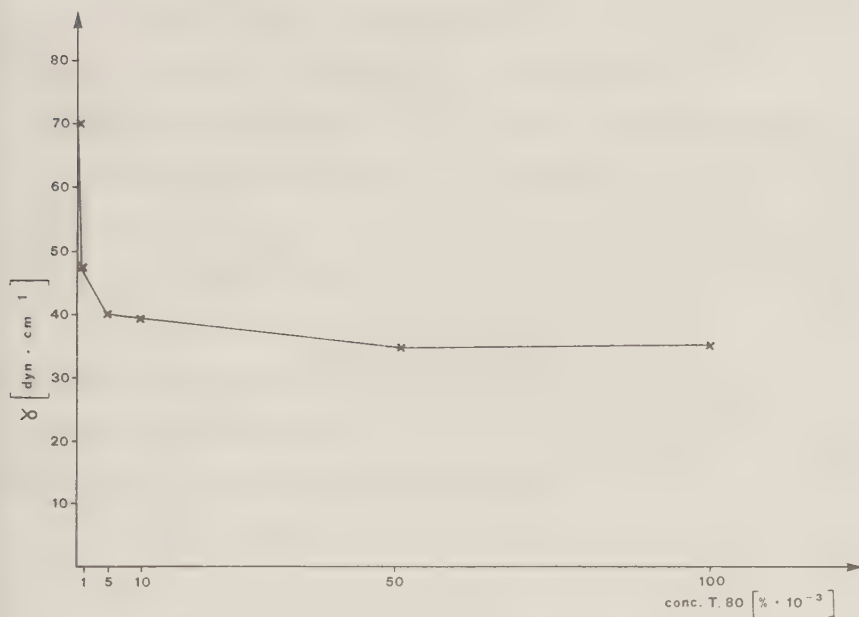
Tableau 19

Influence du Tween^R 80 sur la tension superficielle du suc gastrique artificiel à 37°

Tween ^R 80 [%]	Tension superficielle [dyn cm ⁻¹]	Ecart-type de la moyenne de 4 déterminations
0	70,0	1,1
0,001	47,2	1,0
0,005	40,6	0,4
0,010	40,0	0,7
0,050	35,6	0,3
0,100	36,3	0,6

Figure 16

*Influence du Tween^R 80 sur la tension superficielle du
suc gastrique artificiel à 37°*



D'après la figure 16, on voit que la concentration micellaire critique se situe entre 0,005 et 0,010%.

Ce sont donc ces concentrations qui seront choisies pour tester les capsules contenant d'une part la phénacétine et d'autre part l'acétanilide.

Des essais de solubilité, effectués selon la méthode décrite précédemment, ont prouvé que le Tween^R 80, aux concentrations choisies, n'influence pas la solubilité des deux principes actifs.

III.3.2.3 Choix des formules

Pour la phénacétine, nous avons testé en premier lieu toutes les grandeurs de particules avec une concentration de Tween^R 80 de 0,010% dans le milieu de dissolution.

En supposant qu'il y avait déjà formation de micelles avec ce pourcentage de tensio-actif, nous avons encore essayé quelques fractions intéressantes avec des concentrations inférieures (0,005 et 0,001%). D'après les résultats obtenus, c'est la concentration de 0,005% qui a été adoptée pour tester toutes les fractions d'acétanilide.

Nous avons également remarqué que plus la concentration de Tween^R 80 est élevée, plus il y a formation de mousse et de bulles d'air dans les tuyaux de l'appareil à dissolution, ce qui est un inconvénient important pour les mesures.

III.3.3 Résultats des tests de dissolution et calculs

La présence d'un agent mouillant augmente la vitesse de dissolution de certaines fractions de phénacétine et d'acétanilide. Selon les cas, il a fallu diluer les solutions à analyser.

Nous passons successivement en revue l'influence du Tween^R 80 sur la vitesse de dissolution des deux principes actifs. Nous étudions également l'interdépendance de cet agent mouillant et des grandeurs de particules sur la dissolution de ces deux dérivés hydrophobes.

Tous les résultats sont exprimés en pourcentage de substance dissoute en fonction du temps.

Le tableau 20 reproduit les valeurs après 10, 20 et 30 minutes pour la phénacétine, en présence de 0,001, 0,005 et 0,010% de Tween^R 80. Le tableau 21 montre les résultats obtenus avec l'acétanilide et 0,005% de Tween^R 80.

Tableau 20

Interdépendance du Tween^R 80 et de la taille des particules sur le pourcentage de phénacétine en solution

Fractions [μm]	10 min	20 min	30 min
T w e e n ^R 80 0,010%			
63 - 100	0,6 ($\pm$ 0,2)	2,0 ($\pm$ 0,4)	3,6 ($\pm$ 0,9)
100 - 200	0,6 ($\pm$ 0,7)	3,5 ($\pm$ 1,1)	7,0 ($\pm$ 1,4)
200 - 315	0,7 ($\pm$ 0,4)	3,1 ($\pm$ 1,2)	6,6 ($\pm$ 2,0)
315 - 400	1,8 ($\pm$ 0,4)	9,3 ($\pm$ 1,0)	19,0 ($\pm$ 2,3)
400 - 500	2,2 ($\pm$ 0,9)	10,8 ($\pm$ 2,7)	20,3 ($\pm$ 3,7)
> 500	0,6 ($\pm$ 0,2)	2,8 ($\pm$ 0,6)	5,3 ($\pm$ 1,1)
T w e e n ^R 80 0,005%			
100 - 200	0,7 ($\pm$ 0,1)	2,7 ($\pm$ 0,4)	5,2 ($\pm$ 0,8)
315 - 400	1,0 ($\pm$ 0,3)	4,9 ($\pm$ 0,9)	10,4 ($\pm$ 2,1)
400 - 500	1,4 ($\pm$ 0,5)	7,4 ($\pm$ 0,6)	17,7 ($\pm$ 0,8)
T w e e n ^R 80 0,001%			
315 - 400	1,0 ($\pm$ 0,3)	3,2 ($\pm$ 0,8)	5,6 ($\pm$ 1,4)
400 - 500	0,8 ($\pm$ 0,2)	5,6 ($\pm$ 0,9)	9,7 ($\pm$ 2,0)

Les valeurs entre parenthèses expriment l'écart-type de la moyenne d'au moins 4 expériences.

Tableau 21

Interdépendance du Tween^R 80 0,005% et de la taille des particules sur le pourcentage d'acétanilide en solution

Fractions [μm]	10 min	20 min	30 min
100 - 200	14,9 ($\pm$ 3,8)	46,3 ($\pm$ 5,4)	71,0 ($\pm$ 7,5)
200 - 315	21,7 ($\pm$ 6,3)	52,3 ($\pm$ 11,3)	68,9 ($\pm$ 11,6)
315 - 400	19,5 ($\pm$ 1,9)	60,7 ($\pm$ 3,1)	82,0 ($\pm$ 2,6)
400 - 500	23,5 ($\pm$ 5,9)	67,2 ($\pm$ 10,3)	91,3 ($\pm$ 8,4)
> 500	10,3 ($\pm$ 1,6)	29,4 ($\pm$ 4,1)	44,2 ($\pm$ 5,4)

Les figures 17 et 18 regroupent les résultats sous forme d'histogramme et comparent les valeurs obtenues avec et sans Tween^R 80.

Figure 17

Influence du Tween^R 80 sur la vitesse de libération de différentes fractions d'acétanilide

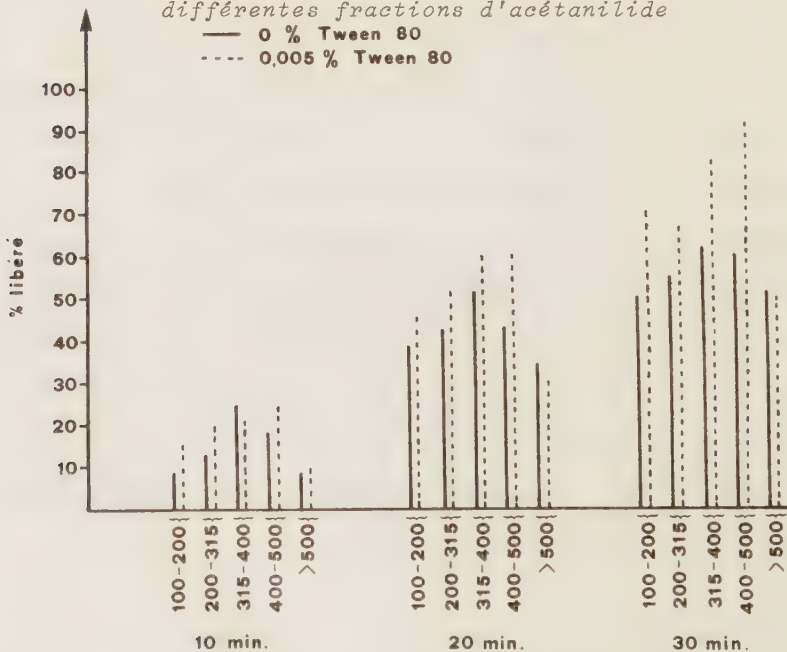
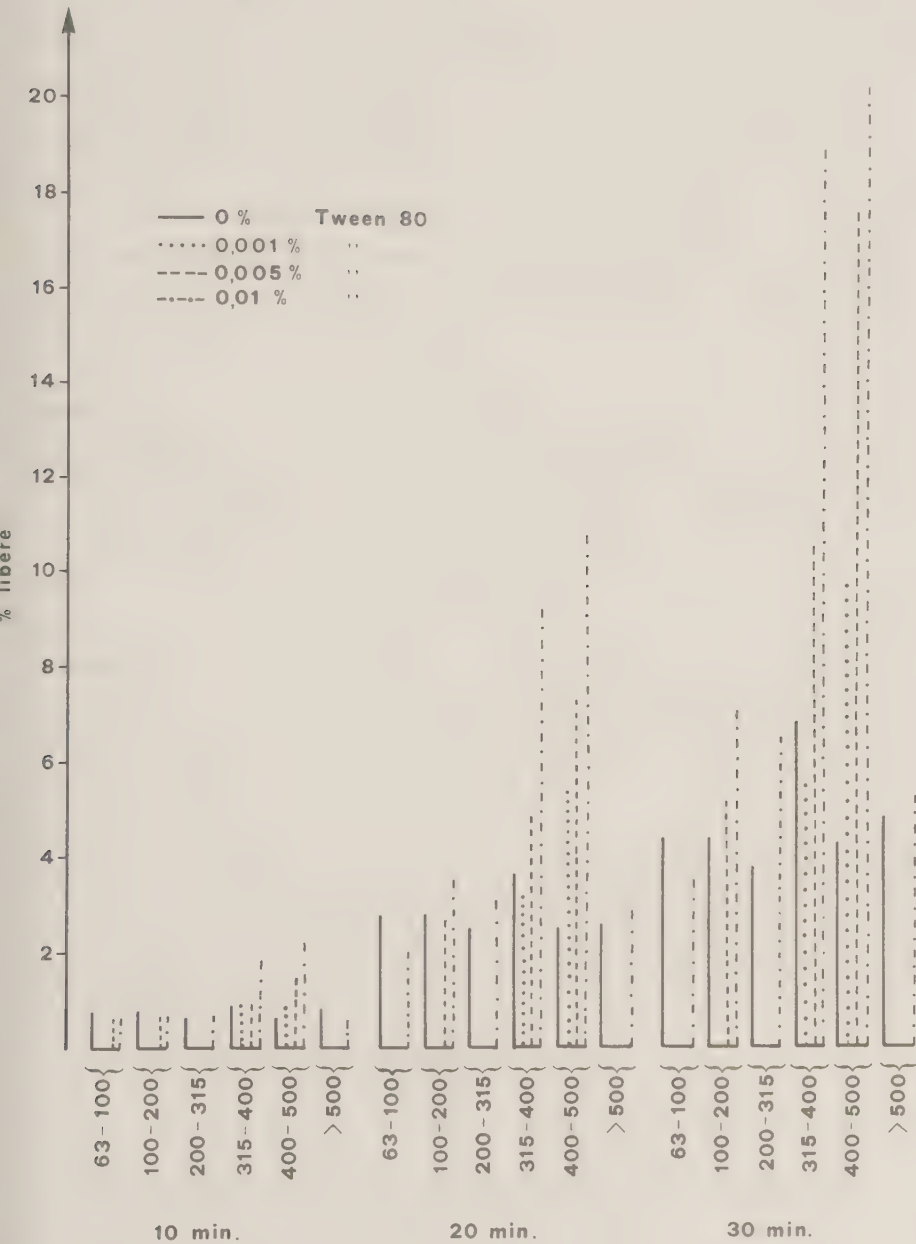


Figure 18

Influence du Tween^R 80 sur la vitesse de libération de différentes fractions de phénacétine



III.3.4 Interprétations et conclusions

Ces résultats ne permettent pas d'aboutir aux mêmes conclusions que *Finholt*²³ qui a montré que l'adjonction d'un tensio-actif au milieu de dissolution permettait aux petites particules de phénacétine de se dissoudre plus vite que les grandes. Cependant, il a effectué ses études sur des poudres seules. Par ailleurs, les travaux de *Weintraub* et *Gibaldi*⁵⁹ avaient déjà montré que les agents mouillants avaient peu d'effets sur la libération d'acide acétylsalicylique dans des capsules.

La vitesse de dissolution croît avec l'augmentation de la concentration de Tween^R 80. Cet effet est plus prononcé avec la phénacétine, plus hydrophobe que l'acétanilide.

Le rôle du Tween^R 80 ne se manifeste pas au début de la dissolution; des différences significatives ne sont visibles qu'après 20 minutes. Il ne favorise pas, comme on s'y attendait, la dissolution des petites particules, mais plutôt les fractions moyennes comprises entre 315 et 500 μm , surtout pour la phénacétine. Il semble donc qu'il existe une certaine taille de particule optimale pour la dissolution. Ce phénomène a été mis en évidence pour la gluthétimide avec les travaux de *Lin et coll.*⁶³. Dans de tels cas, la dimension des particules, plus que l'agent tensio-

actif, joue le rôle principal dans le processus de dissolution. La présence d'une enveloppe gélatineuse autour de la poudre accentue encore les différences observées pour chaque fraction et ceci malgré la présence de l'agent mouillant. En effet, jusqu'à 200 μm , la poudre est trop compacte pour être influencée par le tensio-actif tandis que des particules de la fraction 400 - 500 μm , qui ne restent pas agglomérées à cause de leur poids, se dissolvent encore plus vite en présence du Tween^R 80 qui améliore le contact avec le solvant. C'est du reste la seule fraction dont la vitesse de dissolution est significativement augmentée par 0,001% de Tween^R 80.

La dissolution de la fraction supérieure à 500 μm , est uniquement fonction de sa surface réduite et elle n'est aucunement influencée par la présence d'un agent mouillant, quelle que soit sa concentration.

On peut pratiquement tirer les mêmes conclusions des résultats obtenus avec l'acétanilide. Après 10 minutes, on n'observe pas de différences significatives et après 20 minutes, seule la fraction 400 - 500 μm présente une vitesse de dissolution plus rapide avec le Tween^R 80.

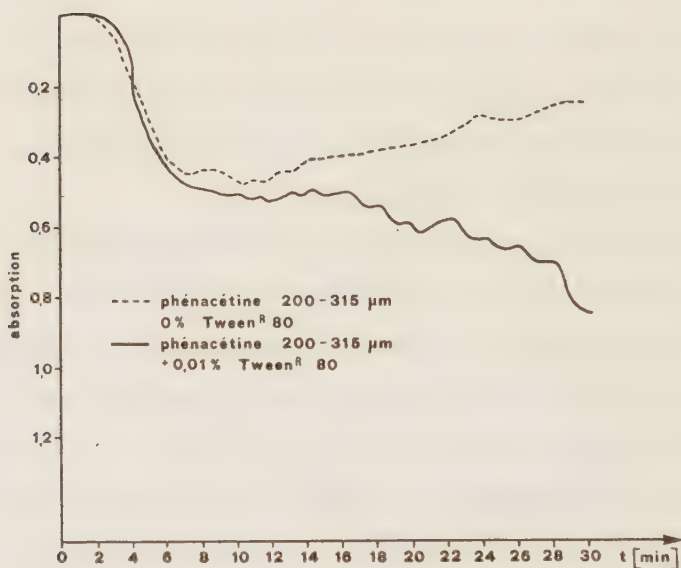
Une autre différence, observée avec le Tween^R 80, n'apparaît pas dans les résultats tels que nous les avons présentés; la courbe d'absorption, tracée en continu par le spectrophotomètre lors de la dissolution, n'a pas le même profil avec le tensio-actif que sans cet adjuvant.

Sans Tween^R 80, la courbe d'absorption passe par un maximum vers 10 minutes puis diminue lentement. Par contre, avec l'agent mouillant, on n'observe pas de maximum, l'absorption augmente continuellement. Il semble donc qu'en présence de Tween^R 80, la dissolution se fait plus régulièrement, sans passer par un maximum.

La figure 19 montre les 2 types de courbe obtenus.

Figure 19

Profils de dissolution avec et sans tensio-actif



III.4 Influence combinée d'un adjuvant hydrophile dans la capsule et d'un tensio-actif dans le milieu de dissolution

Nous avons vu dans le chapitre précédent que l'effet d'un agent tensio-actif sur la libération à partir de capsules n'est pas toujours prévisible et que les résultats sont parfois difficilement explicables. La nature hydrophobe des principes actifs et la présence de l'enveloppe gélatineuse ont permis d'émettre certaines hypothèses. Pour les vérifier, nous avons testé l'influence du Tween^R 80 sur des capsules moins hydrophobes, c'est-à-dire contenant du lactose. Ces tests permettront de déterminer si l'action du Tween^R 80 s'additionne à celle du lactose ou si celui-ci n'a plus d'effet en présence d'une formule contenant un adjuvant hydrophile. Il sera également intéressant de voir si les différences entre les grandeurs de particules sont maintenues.

Le but de ces essais est de pouvoir établir par la suite d'éventuelles corrélations avec ce qui se passe réellement *in vivo*.

Si la présence de tensio-actifs physiologiques joue un rôle important dans l'absorption de médicaments incorporés dans des capsules, ce sont les essais avec le Tween^R 80 qui devraient fournir les meilleures corrélations.

III.4.1 Partie expérimentale

Pour limiter les essais, nous n'avons choisi qu'un adjuvant hydrophile, le lactose, avec deux concentrations différentes (2 et 20%), et un seul traceur, la phénacétine avec 2 grandeurs de particules (200 - 315 et 315 - 400 μm).

III.4.1.1 Résultats et calculs des tests de dissolution

Pour tous les essais, nous avons utilisé les mêmes dilutions que pour tester le lactose, c'est-à-dire, des dilutions variant de 6 à 30 fois.

Le tableau 22 et les figures 20 et 21 présentent les résultats obtenus avec la phénacétine, le Tween^R 80 et le lactose. Les résultats sont exprimés en pourcentage de phénacétine en solution.

Tableau 22

*Influence du Tween^R 80 et du lactose sur le pourcentage
de phénacétine en solution*

Formules	10 min	20 min	30 min
200 - 315 µm + lactose 2%	1,6 (± 0,5)	5,4 (± 0,9)	9,0 (± 1,3)
200 - 315 µm + lactose 2% + Tween ^R 80 0,005%	1,7 (± 0,4)	8,2 (± 0,8)	18,7 (± 2,3)
200 - 315 µm + lactose 2% + Tween ^R 80 0,010%	1,7 (± 0,6)	13,0 (± 3,5)	31,6 (± 4,3)
200 - 315 µm + lactose 20%	15,9 (± 1,4)	39,1 (± 2,8)	57,2 (± 4,7)
200 - 315 µm + lactose 20% + Tween ^R 80 0,005%	12,0 (± 1,0)	37,0 (± 2,2)	57,8 (± 4,7)
315 - 400 µm + lactose 2%	1,9 (± 0,3)	7,8 (± 0,6)	15,9 (± 1,3)
315 - 400 µm + lactose 2% + Tween ^R 80 0,005%	1,3 (± 0,5)	8,0 (± 2,2)	20,2 (± 3,8)
315 - 400 µm + lactose 2% + Tween ^R 80 0,010%	3,4 (± 1,3)	16,1 (± 1,4)	31,3 (± 2,4)
315 - 400 µm + lactose 20%	10,7 (± 1,4)	34,2 (± 5,4)	59,6 (± 7,2)
315 - 400 µm + lactose 20% + Tween ^R 80 0,005%	14,5 (± 0,8)	38,3 (± 2,1)	59,1 (± 5,1)

Figure 20

Influence du Tween^R 80 et du lactose sur la vitesse de libération de la phénacétine (fraction 200 - 315 μm)

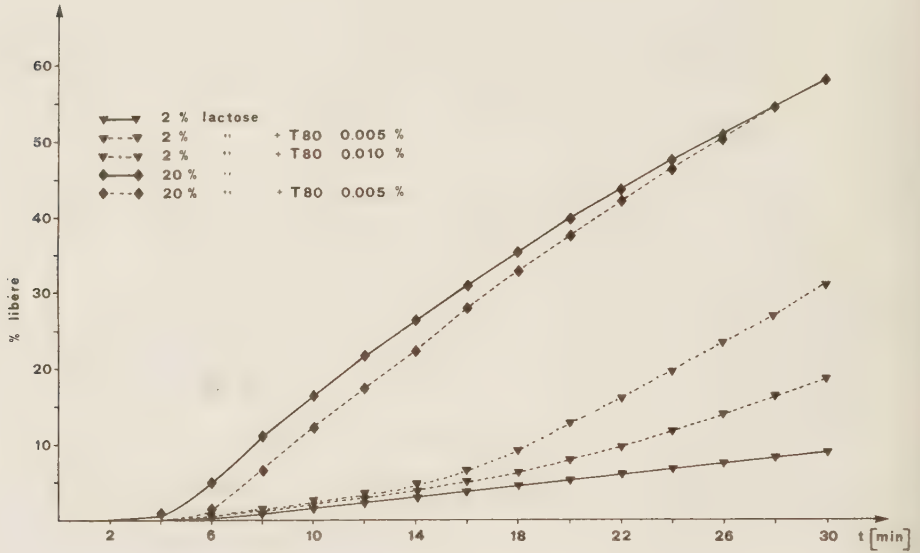
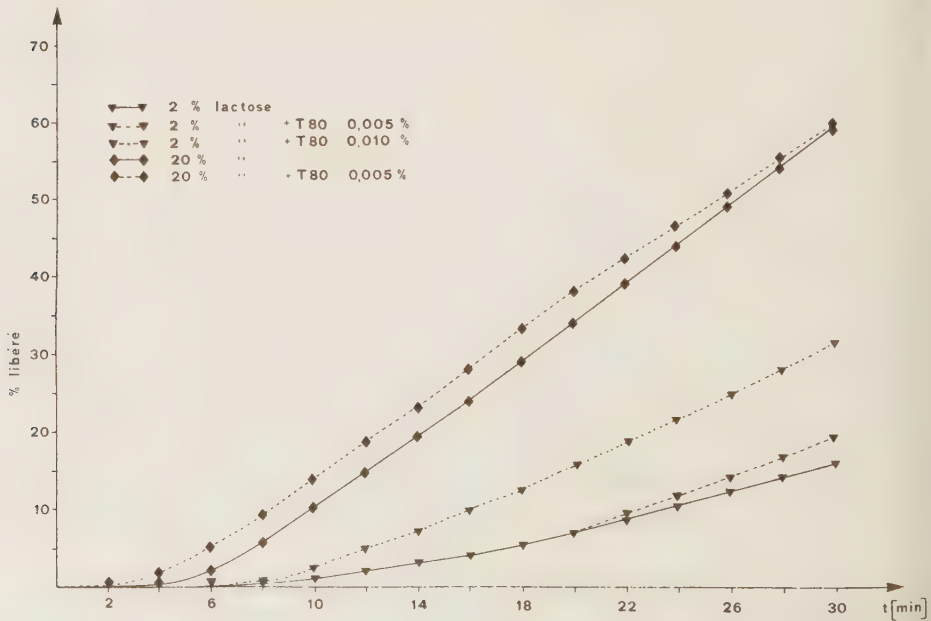


Figure 21

Influence du Tween^R 80 et du lactose sur la vitesse de libération de la phénacétine (fraction 315 - 400 μm)



III.4.1.2 Interprétations et conclusions

On constate tout d'abord que les deux fractions testées se comportent pratiquement de la même façon avec le lactose et le Tween^R 80. La présence simultanée d'un adjuvant hydrophile introduit dans la capsule et d'un tensio-actif dans le milieu de dissolution supprime donc les différences précédemment observées entre les grandeurs de particules, quelles que soient les concentrations de lactose (2 et 20%) et de Tween^R 80 (0,005 et 0,010%) utilisées.

Si la capsule contient une quantité importante de lactose (20%), l'agent tensio-actif n'a plus d'effet sur une telle formulation car celle-ci est devenue suffisamment hydrophile pour que son mouillage s'effectue facilement.

En revanche, avec 2% de lactose, le Tween^R 80 améliore la dissolution des deux fractions de phénacétine testées. Ces mélanges de poudres sont encore assez hydrophobes pour bénéficier de la présence d'un agent mouillant. Dans ce cas, il y a donc synergie du Tween^R 80 et du lactose; si la concentration du tensio-actif augmente, la dissolution est également accélérée.

III.5 Linéarisation du profil de dissolution (RRSW) et interprétation statistique de certains résultats *in vitro*

III.5.1 Aspect théorique

L'importance de la biodisponibilité des médicaments a éveillé l'intérêt des mathématiciens qui ont essayé de décrire les phénomènes de dissolution par des fonctions appropriées⁶⁷.

Il est en effet très utile de pouvoir recourir à des fonctions qui, avec un minimum de paramètres, sont capables de représenter les caractéristiques principales des résultats expérimentaux^{68,69}.

Si la cinétique de dissolution suit une loi physique simple, par exemple une libération de premier ordre, les équations ne posent pas de problèmes. Mais, dans la plupart des cas, (capsules, comprimés enrobés, etc.), on est obligé d'utiliser des formules mathématiques trouvées empiriquement, comme celle proposée originalement par *Rosin, Rammler* et *Sperling*⁷⁰ pour décrire les distributions de particules. Cette fonction, reprise par différents auteurs⁶⁷⁻⁷¹, abrégée parfois par RRSW, permet de décrire favorablement un certain nombre de courbes de dissolution, particulièrement celles présentant une forme sinusoïdale. On peut même obtenir aujourd'hui dans le commerce, des diagrammes imprimés.

Sous la forme logarithmique, la fonction RRSW peut s'écrire ainsi⁶⁷ :

$$\ln \left[- \ln \left(\frac{100 - Q}{100} \right) \right] = b \ln t - b \ln a \quad (8)$$

Q = quantité libérée en % au temps t

b = paramètre de pente (forme)

a = paramètre de temps (échelle)

Explication des paramètres

Le paramètre de pente b, sans dimension, caractérise la forme de la courbe.

Si $b = 1$, l'équation (8) est réduite à une simple exponentielle de 1^{er} ordre.

Si $b > 1$, la vitesse initiale de dissolution est lente, suivie d'une accélération jusqu'au plateau final (par ex. courbe sigmoïde).

Si $b \rightarrow 0$, on obtient une droite.

Le paramètre de temps a, représente un paramètre d'échelle sur l'axe du temps qui a pour ordonnée :

$$a = 1 - e^{-1} = 0,632 \quad (9)$$

C'est le temps qui est nécessaire pour libérer 63,2% du principe actif.

Cette valeur $T_{63,2\%}$ peut être déterminée graphiquement ou par le calcul (ordinateur) et joue un rôle important pour la comparaison des résultats⁶⁹.

Linéarisation

Un des grands intérêts de la fonction RRSW est la linéarisation du profil de dissolution.

En effet, l'équation (8) représente une droite du type :

$$y = bx + a \quad (10)$$

avec

$$x = \ln t \quad (11)$$

en abscisse

et

$$y = \ln \left[- \ln \left(\frac{100 - Q}{100} \right) \right] \quad (12)$$

en ordonnée

La droite obtenue est caractérisée par sa pente b et son ordonnée à l'origine :

$$a = - b \cdot \log a \quad (13)$$

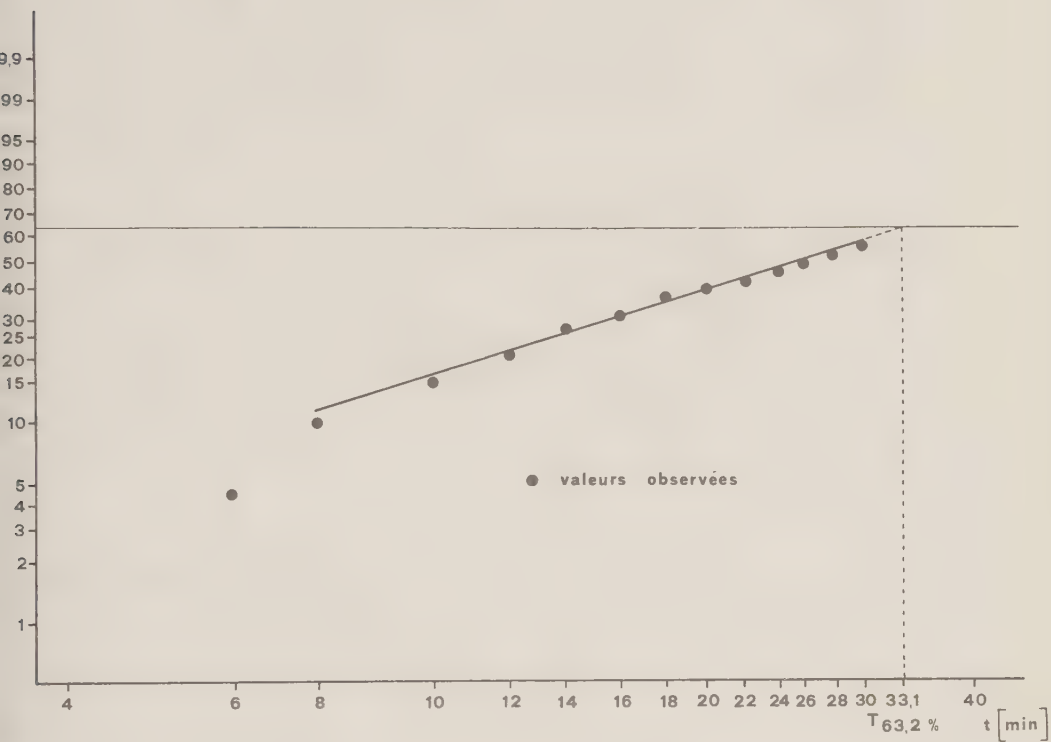
Cette valeur n'a que peu d'intérêt.

La valeur de a est obtenue par l'intersection de la droite avec la ligne passant par l'ordonnée à 63,2% (fig. 22).

Une régression linéaire (méthode des moindres carrés) permet d'obtenir les paramètres de même que le coefficient de corrélation r qui est forcément très élevé à cause de la relation doublement logarithmique⁷².

Figure 22

Libération de la phénacétine 200 - 315 μ m + lactose 20%



III.5.2 Préliminaires

En plus des paramètres cités dans le chapitre précédent, un programme d'ordinateur adéquat a permis d'obtenir également la valeur statistique s_b de même que les limites de confiance de la variable dépendante $T_{63,2\%}$ à l'aide de l'équation proposée par *Fieller*⁷³

si $C = 63,2\%$ (constante)

$b =$ pente

$x =$ temps

$N =$ nombre de Y_{ij} totaux (points)

$y =$ % en solution

$F_{0,05} \quad (n_1, n_2) \quad \begin{matrix} n_1 = 1 \\ n_2 = N-2 \end{matrix}$

on peut poser, d'après l'équation de la régression,

$C = Y$ d'où :

$$C = \bar{y} + b (x - \bar{x}) \quad (14)$$

Les limites de confiance de la droite de régression sont données par l'équation :

$$Y \pm t_{0,05} \cdot S \cdot \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{(x - \bar{x})^2}{S_{xx}}} \quad (15)$$

On sait que $F = t^2 \quad (16)$

On obtient donc par remplacement :

$$F_{0,05}^{(1,N-2)} = \left[C - \bar{y} - b (x - \bar{x}) \right]^2 \Bigg/ S^2 \left(\frac{1}{N} + \frac{(x - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right) \quad (17)$$

En développant la formule (17), on obtient une équation quadratique du type : $ax + bx^2 + c = 0$.

La résolution de cette équation nous donne les deux valeurs de x_1 et x_2 qui sont les limites de confiance de $T_{63,2\%}$.

A l'aide d'un programme d'ordinateur, nous avons également testé la linéarité de chaque droite obtenue. Seuls quelques cas n'ont pas répondu aux exigences du test pour le seuil choisi ($P_{0,05}$).

III.5.3 Résultats et interprétation

Pour alléger les tableaux des résultats, nous avons adopté un code pour caractériser chaque formule.

Explication du code :

Phénacétine

Pa	63 - 100 μm
Pb	100 - 200 μm
Pc	200 - 315 μm
Pd	315 - 400 μm
Pe	400 - 500 μm
Pf	> 500 μm

Acétanilide

Aa
Ab
Ac
Ad
Ae
Af

Adjuvants :

L = lactose

M = maltose

10T = Tween^R 80 0,010%

5T = " 0,005%

1T = " 0,001%

Exemple :

Pc 2L 5T = phénacétine 200 - 315 μ m + lactose 2%
+ Tween^R 80 0,005%

Tableau 23

*Paramètres de la linéarisation des profils de
dissolution selon RRSW*

Influence de la granulométrie

mules	b ± limites de confiance	r	T _{63,2%} [min]	Val.inf.de T [min]	Val.sup.de T [min]	F (lin)
	1,62 (+ 0,27) - 0,27	0,892	191,7	136,4	308,1	***
	1,59 (+ 0,09) - 0,09	0,983	198,9	175,3	228,9	***
	1,68 (+ 0,15) - 0,15	0,944	185,3	152,0	235,1	***
	1,92 (+ 0,10) - 0,10	0,976	113,0	102,8	125,6	***
	1,90 (+ 0,20) - 0,20	0,927	144,5	117,9	185,7	***
	1,83 (+ 0,18) - 0,18	0,942	149,5	124,3	186,9	***
	1,29 (+ 0,12) - 0,12	0,952	68,1	60,3	78,8	*
	1,82 (+ 0,26) - 0,26	0,881	31,4	28,9	34,8	**
	1,49 (+ 0,17) - 0,17	0,921	30,8	28,9	33,2	—
	1,08 (+ 0,16) - 0,16	0,824	27,7	25,8	30,3	***
	1,37 (+ 0,07) - 0,07	0,974	31,0	30,1	32,0	***
	1,87 (+ 0,34) - 0,34	0,877	34,2	30,6	39,9	***

Les astérisques indiquent le degré de significativité de F (lin).

*** Valeur très fortement significative si F observé < F_{table} pour prob. 0,05.

** Valeur très significative si F observé < F_{table} pour prob. 0,01.

* Valeur significative si F observé < F_{table} pour prob. 0,001.

— Valeur non significative si F observé > F_{table} pour prob. 0,001.

Tableau 23 (suite)

B) Influence du lactose

Formules	b + limites de confiance	r	T _{63,2%} [min]	Val.inf.de T [min]	Val.sup.de T [min]	F (lin)
Pb 10L	2,37 (+ 0,17)	0,977	33,2	31,7	35,1	***
Pb 20L	1,57 (+ 0,13)	0,931	33,2	31,5	35,3	***
Pb 50L	1,32 (+ 0,11)	0,957	40,7	38,1	43,8	***
Pc 2L	1,54 (+ 0,16)	0,934	136,0	112,8	171,1	***
Pc 5L	2,59 (+ 0,17)	0,969	48,6	45,6	52,4	***
Pc 10L	2,15 (+ 0,19)	0,954	34,2	32,2	36,7	***
Pc 20L	1,43 (+ 0,09)	0,982	33,0	31,7	34,6	***
Pc 50L	1,39 (+ 0,12)	0,958	36,2	34,0	38,9	***
Pd 2L	2,31 (+ 0,11)	0,984	60,5	57,1	64,4	*
Pd 10L	1,88 (+ 0,12)	0,978	35,1	33,6	36,9	***
Pd 20L	1,82 (+ 0,21)	0,932	33,0	30,8	36,0	***
Pe 5L	2,44 (+ 0,29)	0,957	46,6	41,9	53,1	***
Pe 10L	1,69 (+ 0,16)	0,943	51,4	46,8	57,4	***
Pe 20L	1,74 (+ 0,17)	0,957	37,9	35,2	41,4	***
Aa 5L	1,02 (+ 0,07)	0,970	106,7	94,4	122,8	***
Aa 10L	0,95 (+ 0,11)	0,895	57,4	50,5	67,6	***
Ac 2L	1,02 (+ 0,19)	0,834	24,1	22,4	26,5	***
Ac 5L	1,28 (+ 0,18)	0,816	15,4	14,6	16,2	***
Ac 10L	1,12 (+ 0,18)	0,839	12,0	10,9	12,9	***
Ac 20L	0,86 (+ 0,11)	0,913	14,1	13,4	14,8	***
Ac 50L	1,63 (+ 0,31)	0,812	12,9	11,7	14,0	***
As 5L	1,36 (+ 0,14)	0,952	19,3	18,6	20,0	***
As 10L	1,31 (+ 0,17)	0,885	21,1	20,2	22,1	***
As 20L	1,71 (+ 0,30)	0,827	12,5	11,3	13,5	***

Tableau 23 (suite)

C) Influence du maltose

Formules	b ± limites de confiance	r	T _{63,2%} [min]	Val.inf.de T [min]	Val.sup.de T [min]	F (lin)
c 2M	1,87 (+ 0,06) - 0,06	0,988	104,0	99,2	109,4	**
c 5M	2,69 (+ 0,09) - 0,09	0,983	51,4	49,8	53,1	***
c 10M	2,75 (+ 0,09) - 0,09	0,983	38,6	37,9	39,5	—
c 20M	1,87 (+ 0,09) - 0,09	0,961	46,2	44,9	48,1	***
c 50M	1,90 (+ 0,10) - 0,10	0,953	49,1	47,1	51,3	***
c 2M	1,19 (+ 0,13) - 0,13	0,904	20,1	19,4	20,9	***
c 5M	1,85 (+ 0,27) - 0,27	0,793	15,3	14,3	16,2	***
c 10M	0,95 (+ 0,09) - 0,09	0,896	22,7	21,9	23,6	***
c 20M	1,12 (+ 0,13) - 0,13	0,869	33,2	31,0	36,1	***
c 50M	1,50 (+ 0,19) - 0,19	0,844	24,3	23,1	25,7	***

D) Influence du Tween^R 80 et granulométrie

a 10T	1,70 (+ 0,18) - 0,18	0,923	206,3	164,3	273,0	***
b 10T	1,98 (+ 0,21) - 0,21	0,949	111,0	93,7	136,6	***
c 10T	2,12 (+ 0,23) - 0,23	0,952	107,9	90,6	133,7	***
d 10T	2,22 (+ 0,10) - 0,10	0,982	58,8	55,8	62,3	***
e 10T	2,18 (+ 0,27) - 0,27	0,932	56,0	49,5	65,5	***
f 10T	2,04 (+ 0,17) - 0,17	0,953	119,6	103,1	142,7	***
d 1T	1,56 (+ 0,19) - 0,19	0,915	184,3	143,6	253,3	***
e 1T	1,70 (+ 0,15) - 0,15	0,950	111,7	96,2	133,3	***
b 5T	1,84 (+ 0,11) - 0,11	0,978	144,7	129,2	164,4	***
d 5T	2,19 (+ 0,11) - 0,11	0,980	81,5	75,5	88,7	***
e 5T	2,39 (+ 0,13) - 0,13	0,985	59,1	55,6	63,4	***

Tableau 23 (suite)

Formules	b ± limites de confiance	r	T _{63,2%} [min]	Val.inf.de T [min]	Val.sup.de T [min]	F (lin)
Ab 5T	1,83 (+ 0,16) - 0,16)	0,956	26,6	25,6	27,8	***
Ac 5T	1,40 (+ 0,24) - 0,24)	0,844	25,6	23,8	28,0	***
Ad 5T	1,78 (+ 0,10) - 0,10)	0,984	21,3	20,9	21,8	**
Ae 5T	2,14 (+ 0,26) - 0,26)	0,899	18,6	17,9	19,4	***
Af 5T	1,45 (+ 0,13) - 0,13)	0,949	42,3	39,3	46,2	***

E) Influence du Tween^R 80, du lactose et de la granulométrie

Pc 2L 10T	2,97 (+ 0,18) - 0,18)	0,978	40,7	38,9	42,9	***
Pd 2L 10T	2,26 (+ 0,17) - 0,17)	0,972	44,6	41,8	48,1	***
Pc 2L 5T	2,23 (+ 0,11) - 0,11)	0,987	60,6	57,2	64,6	***
Pd 2L 5T	2,55 (+ 0,18) - 0,18)	0,962	53,8	50,0	58,5	***
Pc 20L 5T	1,71 (+ 0,01) - 0,01)	0,989	32,0	31,2	33,0	***
Pd 20L 5T	1,50 (+ 0,01) - 0,01)	0,991	31,9	31,1	32,8	***

Figure 23

*Influence du lactose et de la granulométrie sur $T_{63,2\%}$
pour la phénacétine*

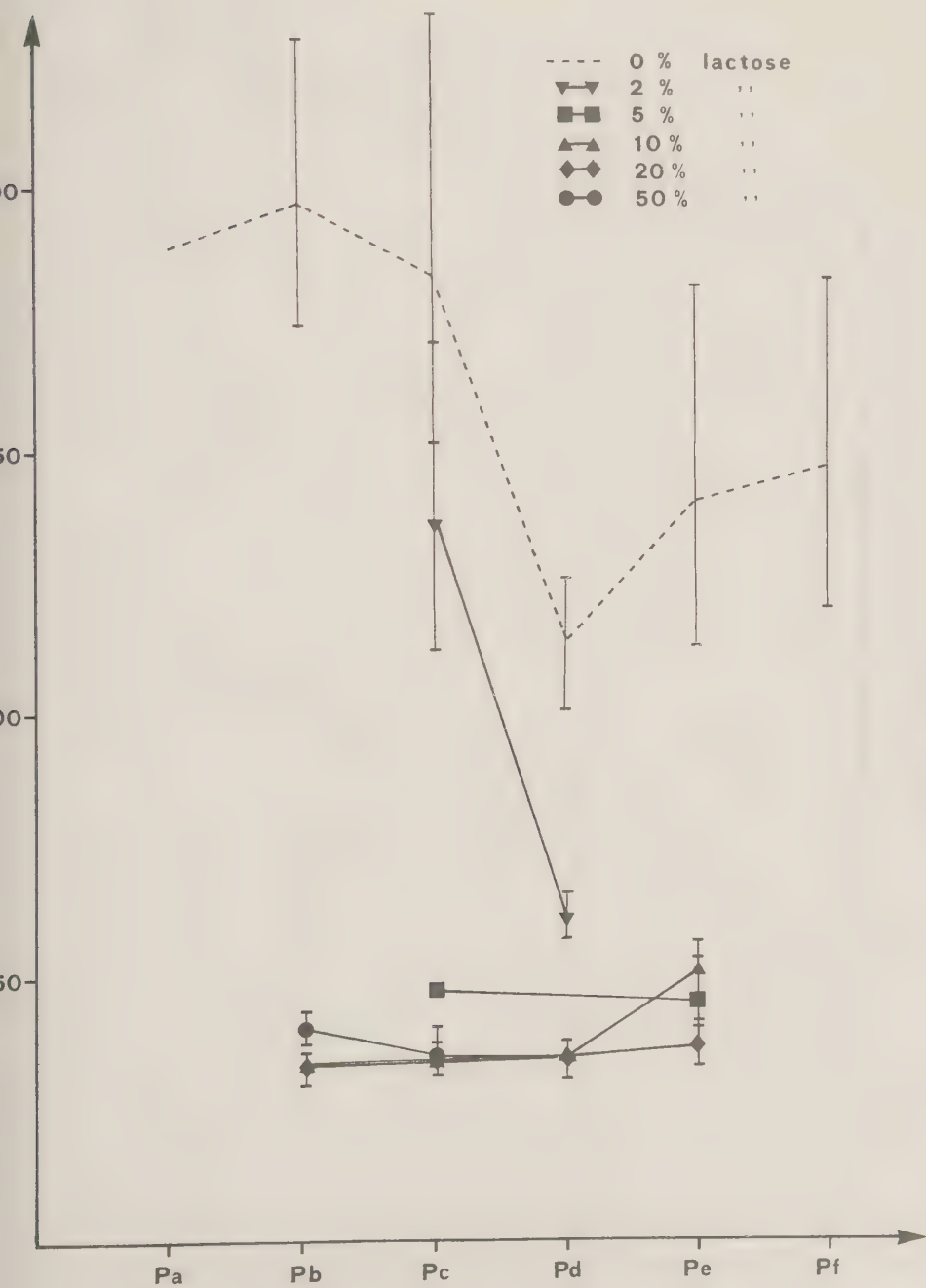


Figure 24

*Influence du lactose et de la granulométrie sur $T_{63,2}$
pour l'acétanilide*

----- 0 % lactose
■ ■ 5 % "
▲ ▲ 10 % "
◆ ◆ 20 % "

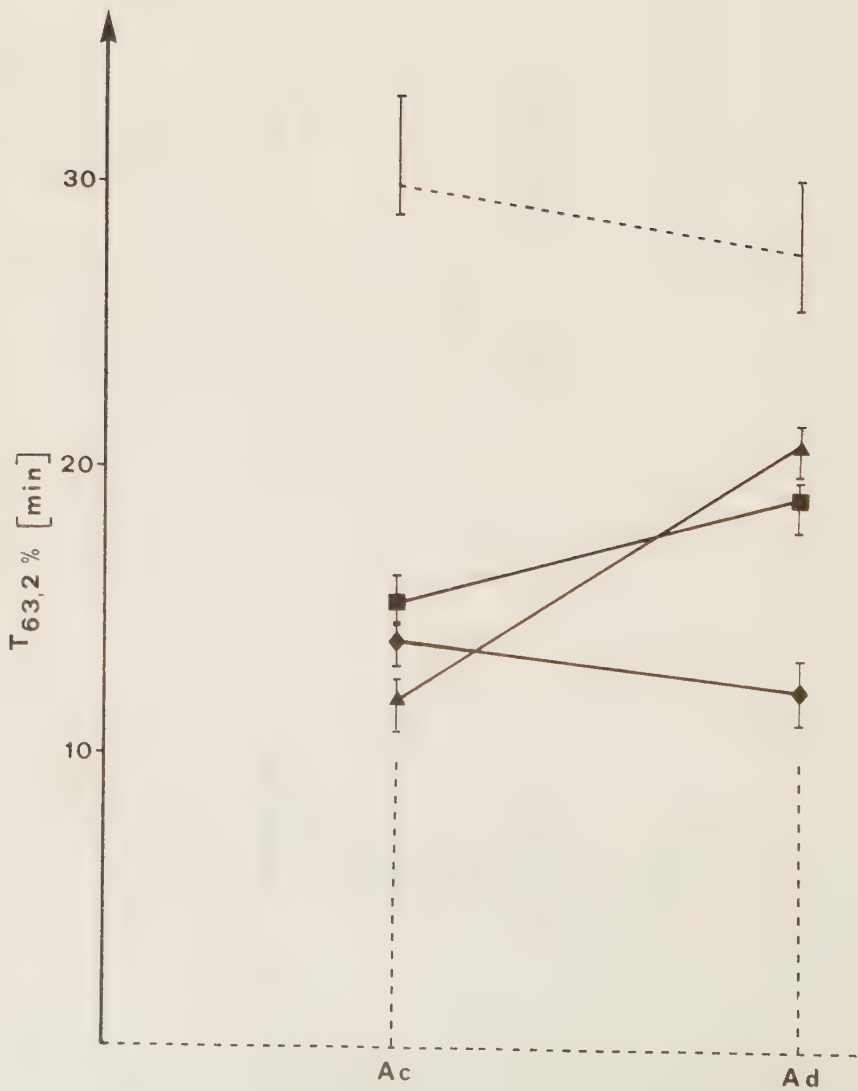


Figure 25

Influence du lactose ou du maltose sur $T_{63,2\%}$ pour la phénacétine et l'acétanilide (fraction 200 - 315 μm)

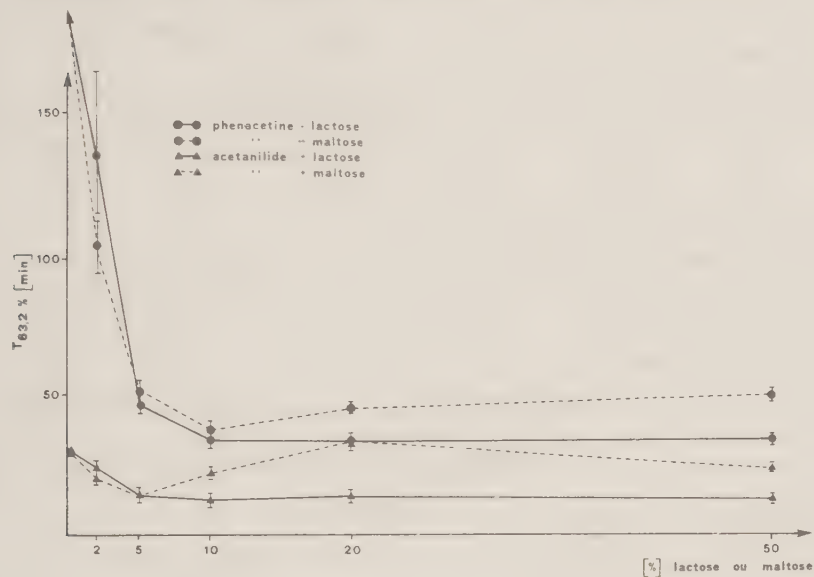


Figure 26

Influence du Tween^R 80 et de la granulométrie sur $T_{63,2\%}$ pour la phénacétine

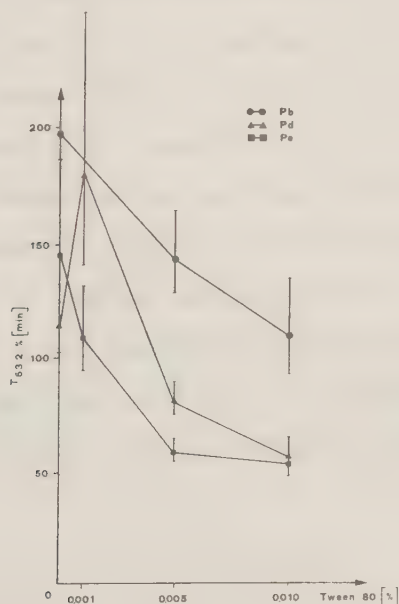
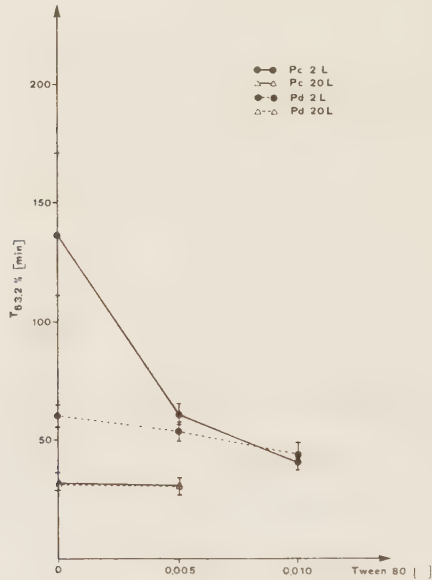


Figure 27

Influence de la granulométrie, du lactose et du Tween^R 80
sur $T_{63,2\%}$ pour la phénacétine



Les figures 23 - 27 illustrent les principaux résultats obtenus par la linéarisation selon RRSW. Toutes les courbes sont tracées en fonction de la variable dépendante $T_{63,2\%}$ en ordonnée et de la grandeur des particules, du pourcentage d'adjuvant hydrophile ou du tensio-actif en abscisse.

La figure 23 confirme les résultats précédemment observés. La fraction 315 - 400 μm de la phénacétine sans adjuvant présente la meilleure dissolution.

L'adjonction de lactose améliore nettement la libération de ce principe actif, mais les concentrations supérieures à 10% sont inutiles puisqu'elles n'augmentent pas davantage la

vitesse de dissolution. Avec la fraction 400 - 500 μm , on n'observe pas de différences significatives entre les formules contenant 5, 10 et 20% de lactose.

Il est possible que la linéarisation selon RRSW tende à supprimer certaines différences observées, par exemple au début de la dissolution.

Pour l'acétanilide (tabl.23), seule la fraction 63 - 100 μm présente une vitesse de dissolution significativement plus lente que les autres. Il apparaît clairement que là aussi, le lactose favorise la libération de ce principe actif et que pour la fraction 200 - 315 μm , l'adjonction de 5, 10 ou 20% de sucre donne les mêmes résultats (fig. 24).

Le coefficient de corrélation est nettement plus faible pour l'acétanilide que pour la phénacétine, en raison de la plus grande dispersion des résultats.

La figure 25 compare les résultats obtenus avec le maltose et le lactose pour la fraction 200 - 315 μm des deux principes actifs. Pour les concentrations faibles (2 et 5%), les résultats sont semblables pour les deux adjuvants. Les quantités supérieures de maltose sont moins favorables que le lactose; le solvant est sans doute utilisé par le sucre trop hydrophile et n'est plus disponible pour le principe actif lui-même. Il est intéressant de remarquer que les deux principes actifs réagissent de la même façon avec les deux adjuvants.

Les figures 26 et 27 illustrent les résultats obtenus avec le Tween^R 80. L'augmentation de la concentration de l'agent

mouillant améliore la dissolution de la phénacétine; les différences observées entre les grandeurs de particules subsiste mais les fractions inférieures (100 - 200 μm) ne sont pas plus influencées que les grandes (400 - 500 μm) par la présence du tensio-actif.

Le ralentissement de la vitesse de dissolution de la fraction 315 - 400 μm , en présence de Tween^R 80 0,001%, demeure cependant inexpliqué.

La figure 27 confirme complètement les conclusions de la page 86. Le Tween^R 80 ne modifie pas la vitesse de dissolution d'une formule contenant une quantité élevée d'adjuvant hydrophile (20% de lactose), mais il améliore la libération des formules ne contenant que 2% de sucre; par contre en présence de lactose, il supprime les différences observées entre les grandeurs de particules.

III.6 Analyse par régression multiple de l'influence simultanée du lactose et de la granulométrie de la phénacétine et de l'acétanilide sur la libération

Nous avons vu qu'il s'avérait difficile de prévoir l'incidence de la granulométrie, de la porosité et des adjuvants sur les caractéristiques de libération.

A l'aide d'une régression multiple et d'un modèle orthogonal⁷⁴ à 2 variables indépendantes, nous proposons une approche statistique permettant de cerner les influences de

la granulométrie du principe actif et de la présence de lactose sur la dissolution *in vitro* de la phénacétine et de l'acétanilide.

III.6.1 Aspect théorique

Cette méthode d'analyse, connue dans les pays anglo-saxons sous le nom de "Orthogonal Composite Design" nécessite la construction d'un modèle quadratique décrivant l'influence simultanée de plusieurs facteurs à l'aide d'un nombre minimum de points expérimentaux⁷¹.

Nous émettons l'hypothèse qu'un polynôme du second degré suffit à décrire l'effet sur la variable dépendante y (ici $T_{63,2\%}$).

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (18)$$

y = variable dépendante mesurable

b_0 = terme constant

b_1, b_2 = coefficients des termes linéaires

b_{11}, b_{22} = coefficients des termes quadratiques

b_{12} = coefficient de l'interaction

x_1, x_2 = variables indépendantes.

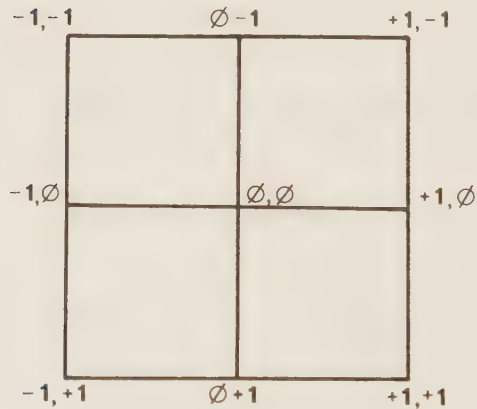
L'estimation des coefficients b s'effectue par la méthode dite "stepwise". A chaque pas, une nouvelle variable $x_1, x_2, \dots, x_n$ est ajoutée à l'équation de la régression. La variable ajoutée est celle qui apporte la plus grande diminution des carrés des écarts entre les valeurs observées et

prédites; ceci se traduit par le plus haut coefficient de corrélation partiel avec la variable dépendante⁷¹. La connaissance des coefficients de l'équation permet de calculer la valeur théorique de la variable dépendante.

Le modèle orthogonal à 2 facteurs est identique à une analyse factorielle complète 3² essais. Le modèle peut être représenté par un carré (fig. 28).

Figure 28

Modèle orthogonal composé à 2 variables



III.6.2 Calculs et interprétation des résultats

Pour discerner l'influence de la taille des particules de phénacétine et d'acétanilide et de l'adjonction de lactose, nous avons eu recours à un plan d'analyse factoriel 3².

Variable dépendante :

$$Y = T_{63,2\%} \text{ (déterminé par la méthode RRSW)}$$

Variables indépendantes :

x_1 = fraction granulométrique de la substance
étudiée et niveaux correspondants
(100 - 200 μm , 200 - 315 μm , 315 - 400 μm)
-1 $\emptyset$ +1

x_2 = pourcentage de lactose et niveaux correspondants
(0%, 10% 20%)
-1 $\emptyset$ +1

Tableau 24

Matrice des niveaux des variables pour les différents essais

Essais	Formules		Niveaux des variables indépendantes	
	Phénacétine	Acétanilide	x_1	x_2
1	Pb	Ab	-1	-1
2	Pd	Ad	+1	-1
3	Pb 20L	Ab 20L	-1	+1
4	Pd 20L	Ad 20L	+1	+1
5	Pb 10L	Ab 10L	-1	$\emptyset$
6	Pd 10L	Ad 10L	+1	$\emptyset$
7	Pc	Ac	$\emptyset$	-1
8	Pc 20L	Ac 20L	$\emptyset$	+1
9	Pc 10L	Ac 10L	$\emptyset$	$\emptyset$

Tableau 25

Résultats de la linéarisation selon RRSW et de l'analyse orthogonale composée pour la phénacétine

No	b	T _{63,2%} Val. observée [min]	T _{63,2%} Val. supérieure [min]	T _{63,2%} Val. inférieure [min]	T _{63,2%} Val. calculée [min]	T _{63,2%} Différence [min]
1	1,73	198,9	205,6	190,3	197,2	0,7
2	1,19	113,0	125,6	102,8	127,0	14,0
3	1,57	33,2	35,3	31,5	22,4	-10,8
4	1,81	33,0	36,0	30,8	37,2	4,2
5	2,37	33,2	35,0	31,7	44,9	11,7
6	1,88	35,1	36,9	33,6	16,9	-18,2
7	1,68	185,3	235,1	151,9	172,2	-13,1
8	1,43	33,0	34,6	31,7	39,6	6,6
9	2,15	34,2	36,7	32,2	40,7	6,5

Coefficients de l'équation quadratique et leurs coefficients de corrélation

Termes	Coefficients de l'équation	Coefficients de corrélation partielle
Linéaires x ₁ x ₂	-14,03 -66,32	0,00 0,67
Quadratiques x ₁ ·x ₂ x ₂ ·x ₂	- 9,76 65,24	0,03 0,22
Interaction x ₁ ·x ₂	21,42	0,05
Constante —	40,67	—

No	b	T _{63,2%} Val. observée [min]	T _{63,2%} Val. supérieure [min]	T _{63,2%} Val. inférieure [min]	T _{63,2%} Val. calculée [min]	T _{63,2%} Différence [min]
1	1,83	31,4	34,8	28,9	34,3	2,9
2	1,01	27,7	30,3	25,8	27,8	0,1
3	1,24	10,3	11,3	9,6	13,7	3,4
4	1,71	12,5	13,5	11,3	13,1	0,6
5	1,37	30,4	31,7	28,7	24,1	-6,3
6	1,31	21,1	22,1	20,2	20,5	-0,6
7	1,49	30,8	33,2	28,9	27,8	-3,0
8	0,86	14,1	14,8	13,4	10,1	-4,0
9	1,12	12,0	12,9	10,9	19,0	7,0

Coefficients de l'équation quadratique et leurs coefficients de corrélation

Termes	Coefficients de l'équation	Coefficients de corrélation partielle
Linéaires x ₁ x ₂	-1,80 -8,83	0,02 0,85
Quadratiques x ₁ ·x ₁ x ₂ ·x ₂	3,27 -0,03	0,02 0,00
Interaction x ₁ ·x ₂	1,48	0,00
Constante —	18,99	—

Figure 29

Vitesse de libération de la phénacétine en fonction des variables x_1 et x_2

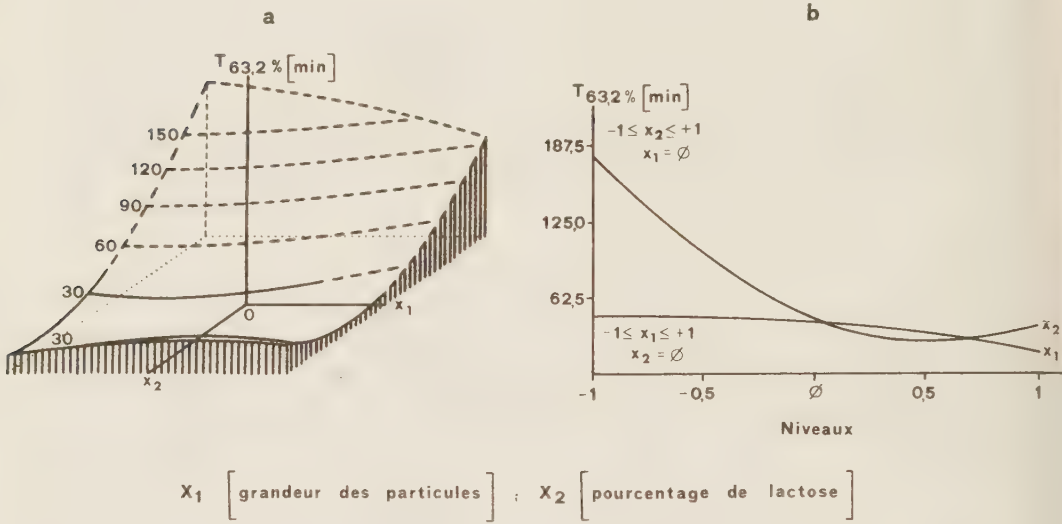
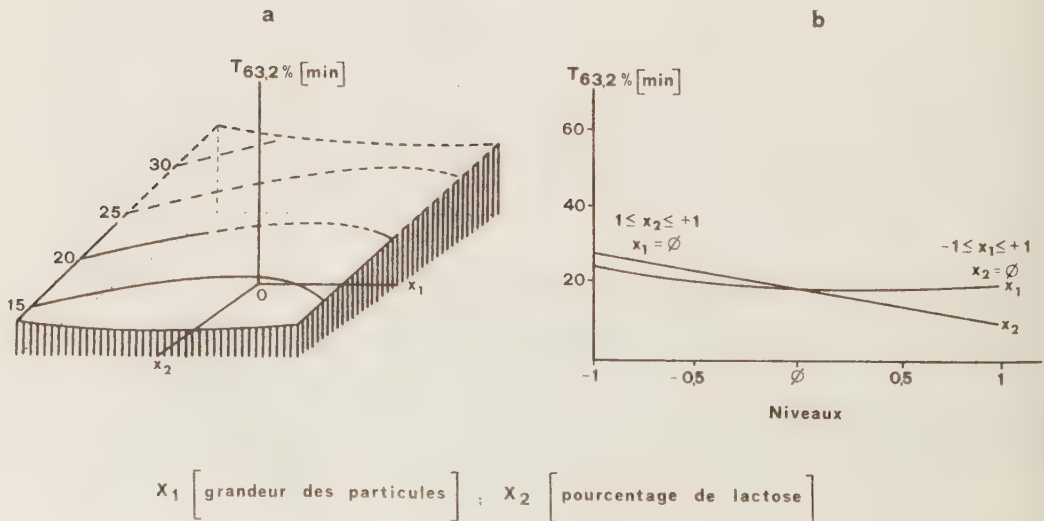


Figure 30

Vitesse de libération de l'acétanilide en fonction des variables x_1 et x_2



Les tableaux 25 et 26 concernent l'analyse des résultats obtenus respectivement avec la phénacétine et l'acétanilide.

Chaque tableau comporte dans sa partie supérieure les valeurs des paramètres de l'équation selon RRSW c'est-à-dire b , $T_{63,2\%}$, les limites de confiance et les valeurs calculées de $T_{63,2\%}$ à l'aide de l'équation quadratique. La dernière colonne indique la différence entre les valeurs expérimentales et calculées (= résidu).

La partie inférieure du tableau donne les coefficients de corrélation partielle ainsi que les coefficients de l'équation quadratique. Tous les calculs ont été effectués à l'aide d'un programme d'ordinateur⁷⁵.

La répartition aléatoire du signe des résidus ainsi que les coefficients de corrélation multiple élevés (= somme des coefficients partiels), $r = 0,97$ pour la phénacétine et $r = 0,89$ pour l'acétanilide, confirment dans les deux cas la validité du choix du modèle de second degré adopté dans cette analyse.

L'examen des coefficients du terme linéaire x_2 (% de lactose) montre pour les deux substances un effet significativement négatif.

Dans le cas de l'acétanilide, les autres termes n'ont pas d'influence si l'on admet un seuil de F égal à 3.

Pour la phénacétine, les termes linéaire x_1 (granulométrie) et quadratique $x_1 \cdot x_1$ sont statistiquement sans incidence; cependant, nous remarquons un terme quadratique ($x_2 \cdot x_2$)

significativement positif ainsi qu'une légère interaction entre la granulométrie et le pourcentage de lactose.

Dans le but de visualiser l'influence des variables, nous donnons une représentation tridimensionnelle obtenue par l'ordinateur à partir de l'équation quadratique pour les deux substances (fig. 29a et 30a).

D'autre part, à l'aide des courbes combinées calculées à partir de tous les essais (fig. 29b et 30b), nous montrons la contribution de chaque variable en maintenant alternativement l'une et l'autre au niveau $\emptyset$.

L'examen des graphiques 29b et 30b indique un effet légèrement différent de la variable x_1 pour les deux traceurs.

Une augmentation de la taille des particules modifie un tout petit peu la vitesse de dissolution de la phénacétine alors que celle de l'acétanilide n'en est pas du tout affectée.

L'adjonction d'un diluant hydrophile (x_2) augmente plus fortement la vitesse de dissolution de la substance la moins soluble (phénacétine). Pour des concentrations en lactose supérieures à 10%, l'effet s'inverse pour la phénacétine (effet négatif du lactose ?) alors que pour l'autre traceur, il s'agit d'un effet pratiquement linéaire.

III.6.3 Conclusions

Le plan d'analyse factorielle 3² a permis de confirmer statistiquement que l'importance de l'effet de différentes variables telles que la granulométrie et l'adjonction d'un diluant sur la dissolution de capsules se manifeste différemment selon la nature du principe actif.

Ainsi, la phénacétine voit sa vitesse de dissolution très peu varier avec un changement de sa granulométrie, alors qu'elle augmente, dans certaines limites, avec l'addition de lactose.

Avec l'acétanilide, on constate également une amélioration de la disponibilité *in vitro* par la présence de diluant. La grandeur des particules pour une substance relativement soluble ne semble pas avoir une grande importance.

IV. *Tests in vivo*

IV.1 *Introduction*

Pour clore cette étude sur les phénomènes de libération de principes actifs peu solubles à partir de capsules gélatineuses, nous avons procédé à des essais sur des volontaires pour essayer de mettre en évidence des variations d'absorption avec les formules qui présentent, *in vitro*, les différences les plus marquées.

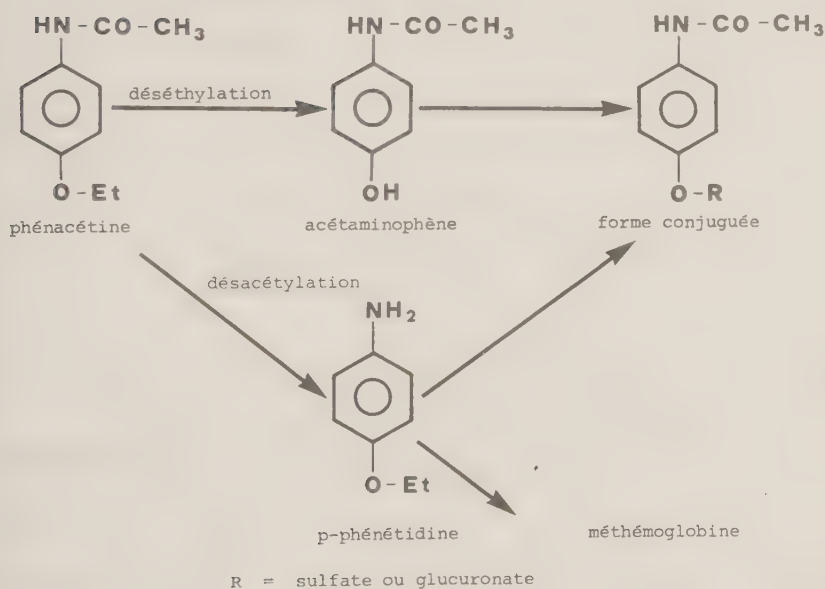
L'ensemble des expériences présentées dans cette quatrième partie se propose uniquement de comparer les profils d'absorption de la phénacétine à partir de différentes formules. Il ne s'agit pas d'une étude pharmacocinétique complète puisque nous ne tiendrons pas compte des phénomènes d'élimination mais seulement des taux plasmatiques obtenus pendant un temps relativement bref pour ces essais (4 h). Pour des raisons pratiques, nous avons dû nous limiter à un seul principe actif.

IV.2 *Métabolisme et absorption de la phénacétine*⁷⁶⁻⁷⁹

La phénacétine, entièrement absorbée dans le tractus gastro-intestinal, est totalement métabolisée par le foie. L'absorption est rapide et la concentration sanguine en phénacétine atteint son maximum 1 ou 2 heures après l'ingestion orale.

Cependant, la quantité de phénacétine inchangée est faible par rapport à la dose ingérée, une grande partie étant métabolisée lors du premier passage dans le foie. Le taux sanguin diminue très vite et après 5 heures, on ne trouve plus de phénacétine dans le sang.

Schéma du métabolisme de la phénacétine⁷⁶



Le métabolisme principal de la phénacétine se fait en deux étapes. En premier lieu une rapide déséthylation forme un métabolite actif, l'acétaminophène. Ensuite ce dérivé est conjugué avec l'acide sulfurique ou glucuronique.

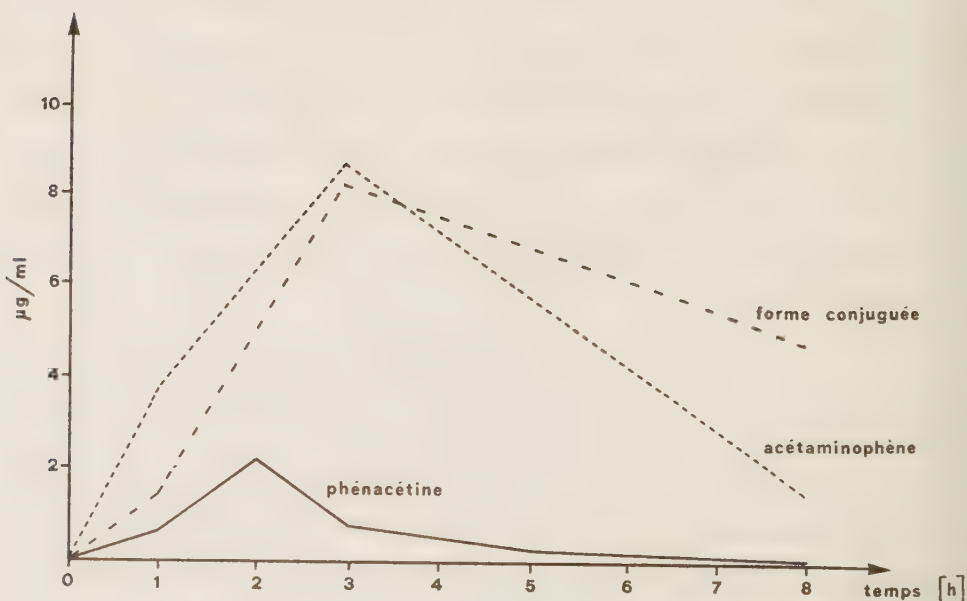
Une très faible partie de la phénacétine subit une désacétylation et produit de la p-phénétidine. Cette dernière semble être le précurseur d'une substance responsable de la formation de la méthémoglobine.

Figure 31

Taux plasmatiques de la phénacétine et de ses métabolites

après administration orale de 1,2 g⁷⁶

(Brodie et Axelrod⁷⁶)



Comme le confirme la figure 31, la concentration sanguine de la phénacétine est faible et diminue très rapidement tandis que ses métabolites apparaissent très vite. La forme conjuguée de l'acétaminophène reste en concentration élevée après la diminution du taux de forme libre.

Les demi-vies plasmatiques de la phénacétine et de l'acétaminophène ont été déterminées par Prescott^{78,79}. Les valeurs obtenues varient respectivement entre 45 et 104 minutes pour la phénacétine et entre 90 et 120 minutes pour l'acétaminophène. Les dosages effectués sur les urines récoltées pendant 24 heures après administration orale de phénacétine, ont donné les résultats suivants :

0,2%	phénacétine inchangée
0,1%	p-phénétidine
3,5%	acétaminophène libre
74,0%	acétaminophène conjugué

IV.3 Revue des différentes méthodes permettant le dosage de la phénacétine et de ses métabolites dans le plasma

Les premières méthodes d'analyse de ces substances dans les liquides biologiques font appel à la colorimétrie.

Brodie et Axelrod^{76,80}, en 1948, publièrent leur méthode originale basée sur une diazotation suivie d'une copulation avec l' α -naphtol pour la phénacétine après l'avoir préalablement hydrolysée en p-phénétidine. Ils dosèrent de la même façon l'acétaminophène après l'avoir hydrolysé en p-aminophénol.

Le p-aminophénol libre peut également être dosé par colorimétrie après formation d'un colorant indophénolique en présence d'hypobromite de sodium.

Plusieurs auteurs^{79,81-83} eurent recours à ces techniques sans modifications malgré leurs imperfections (manque de sensibilité et de reproductibilité) et leur longueur.

En 1968, *Routh et coll.*⁸⁴ mirent en évidence le paracétamol grâce au radical libre diphénylpicrylhydrazyle qui prend un atome d'hydrogène au paracétamol et se décolore progressivement.

La chromatographie sur couche mince, utilisée par certains^{78,79}, reste une méthode qualitative et n'est pas applicable pour des dosages précis.

La chromatographie gazeuse par contre, serait une technique analytique de choix si les principes actifs considérés pouvaient être chromatographiés directement et à de très faibles concentrations. Ce n'est malheureusement pas le cas et *Prescott*⁸⁵, en 1971, proposa une méthode pour transformer la phénacétine et ses métabolites en dérivés triméthylsilylés.

Les faiblesses de ce procédé furent signalées par *Thomas et Caldwell*⁸⁶ qui n'obtinrent pas de silylation complète et rencontrèrent des difficultés lors de l'extraction.

*Wallace et coll.*⁸⁷, en 1973, proposèrent une méthode qui consiste à oxyder la phénacétine par l'oxyde de cobalt en un ou plusieurs produits qui sont alors dosables dans l'UV même

à de faibles concentrations. L'extraction de ces dérivés par NaOH entraîne un effet bathochrome et augmente l'intensité du pic. Quelques petites modifications des conditions d'extraction permettent de doser de la même manière l'acétaminophène.

IV.4 Partie expérimentale

IV.4.1 Méthode analytique

Parmi les méthodes proposées dans la littérature, nous avons éliminé celles qui font appel à la colorimétrie, trop peu sensibles pour les concentrations envisagées de même que la chromatographie gazeuse, nécessitant une trop longue mise au point. La méthode de *Wallace*⁸⁷, apparemment la plus pratique et la plus élégante n'a pas donné les résultats escomptés, les valeurs étant peu reproductibles malgré certaines modifications des conditions expérimentales. Nous avons finalement adopté une technique proposée par *Jahn*⁸⁸ pour l'azapropazone, consistant à précipiter les protéines plasmatiques par du méthanol ou de l'éthanol, à centrifuger et à effectuer directement les mesures au spectrophotomètre avec les solutions alcooliques après les avoir diluées de manière adéquate. Nous dosons ainsi globalement la phénacétine et ses métabolites.

Le blanc consiste en du plasma provenant du même sujet avant administration du médicament.

Après quelques essais préliminaires, nous avons adopté la marche à suivre suivante :

A une prise de 0,5 ml de plasma, on ajoute 4,5 ml d'éthanol absolu pour précipiter les protéines. On centrifuge 15 minutes à 4000 tpm, on prélève le liquide surnageant et on mesure directement au spectrophotomètre par rapport à un blanc qui a subi le même traitement.

Les maximums d'absorption pour la phénacétine et l'acétaminophène dans l'éthanol se situent à 250 nm.

La solution éthanolique de plasma sans principe actif (= blanc) présente 2 maximums, l'un à 215 nm et l'autre à 260 nm. Pour améliorer la précision des résultats, nous avons fait 2 courbes d'étalonnage, l'une à 250 nm et l'autre à 260 nm et chaque lecture a été faite à ces deux longueurs d'onde.

Tableau 27

Résultats des courbes d'étalonnage de la phénacétine
dans l'éthanol

Concentrations		Absorption	
µg/ml	mol · dm ⁻³ · 10 ⁻⁵	250 nm	260 nm
1,0	0,558	0,095	0,070
2,0	1,180	0,175	0,163
4,0	2,230	0,345	0,250
5,0	2,790	0,445	0,320
6,6	3,720	0,580	0,415
10,0	5,580	0,870	0,660
Pente		0,0865	0,0626
$E_{1cm}^{1\%}$		865	626

Remarques

Selon la littérature⁸⁹, l'acétaminophène et la phénacétine ont pratiquement le même $E_{1cm}^{1\%}$ dans l'éthanol. Les valeurs indiquées sont de 908 pour la phénacétine et de 900 pour l'acétaminophène.

Expérimentalement, nous avons trouvé respectivement 865 et 857 pour ces deux substances à la longueur d'onde de 250 nm. Par contre, n'ayant pas le même poids moléculaire, ces

deux principes actifs n'auront pas le même coefficient d'extinction moléculaire. Pour nos calculs de concentrations plasmatiques toutes les valeurs d'absorption ont été rapportées en $\mu\text{g/ml}$ de phénacétine.

IV.4.2 Protocole expérimental

IV.4.2.1 Choix des formules

Nous avons limité à trois le nombre des formules à tester, en prenant celles qui présentaient *in vitro* le plus d'intérêt et le plus de différences entre elles.

Nous avons retenu deux grandeurs de particules de phénacétine et une formule avec du lactose comme adjuvant.

Formule A: phénacétine 63 - 100 μm (290 mg par capsule)

Formule B: phénacétine 315 - 400 μm (290 mg par capsule)

Formule C: phénacétine 315 - 400 μm + 20% lactose
(253 mg de phénacétine + 63 mg de lactose
par capsule)

In vitro, nous avons obtenu avec la fraction 315 - 400 μm des dissolutions plus rapides qu'avec toutes les autres fractions, surtout par rapport aux petites particules comprises entre 63 et 100 μm .

IV.4.2.2 Plan de l'expérience

Chaque volontaire d'un groupe de 6 sujets en bonne santé (4 femmes et 2 hommes) (tabl. 28), reçoit les trois formules, lors de trois séries d'expériences espacées de 15 jours en essais croisés. Pour permettre les dosages, chaque volontaire prend à jeun trois capsules à la fois, avec un verre d'eau. Pour éviter les interférences avec d'autres substances lors du dosage, les sujets n'ont pas absorbé d'autre médicaments une semaine avant l'expérience. Aux temps indiqués sur les tableaux 28, 29 et 30, 5 ml de sang veineux sont prélevés dans des tubes héparinisés et immédiatement centrifugés pendant 10 minutes à 300 tpm. Le plasma surnageant est prélevé et conservé au froid.

Au temps 0, on prélève également sur chaque sujet, 5 ml de sang pour le blanc.

IV.5 Résultats et commentaires

IV.5.1 Capsules de phénacétine 63 - 100 μ m sans adjuvant

Les taux plasmatiques de phénacétine après absorption simultanée de trois capsules contenant ce principe actif sous forme de petits cristaux de 63 - 100 μ m sont exprimés sur le tableau 28.

La moyenne des 6 volontaires est exprimée sur la figure 32. Pour permettre les comparaisons, toutes les figures représentent les taux plasmatiques rapportés à une prise hypothétique de 1 g de phénacétine.

Tableau 28

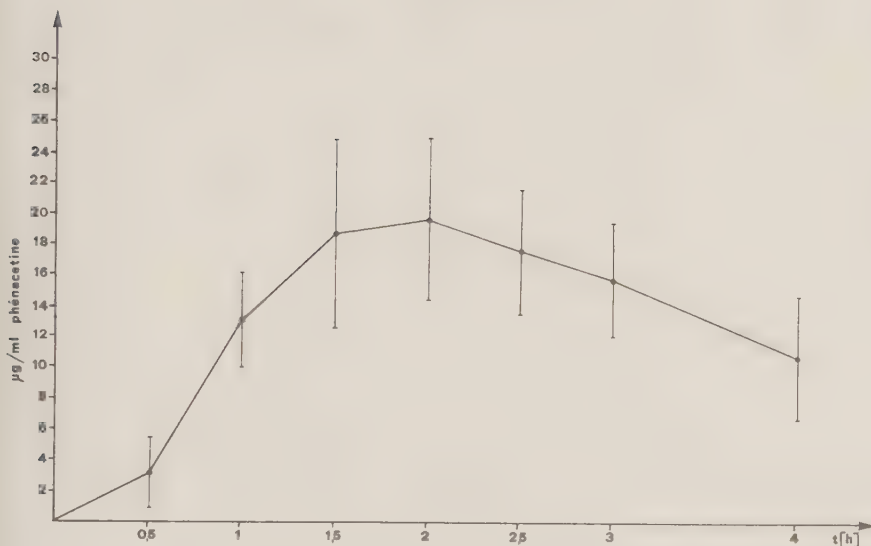
Taux plasmatiques [$\mu\text{g/ml}$] de phénacétine totale après administration orale
de 3 capsules contenant chacune 290 mg de phénacétine 63 - 100 μm

Sujets	Sexe	Age	Poids [kg]	T e m p s d e p r é l è v e m e n t s [h]						
				0,5	1	1,5	2	2,5	3	4
C.S.	F	28	47	4,05	12,49	20,58	20,00	18,50	15,95	12,49
P.S.	M	27	71	4,05	6,94	11,56	14,80	13,87	13,76	10,17
J.B.	F	39	57	4,27	14,45	21,39	20,81	17,57	15,84	10,06
A.S.	F	30	54	1,16	12,95	19,88	20,81	18,73	16,42	11,10
J.S.	M	27	70	0,00	13,30	10,40	9,83	8,90	7,17	0,58
D.M.	F	42	58	1,16	10,64	14,68	16,99	14,10	13,53	10,06

Figure 32

Taux plasmatiques après administration de 1 g de
phénacétine 63 - 100 μm

┌─┐ écart-type par rapport à la
│●│ moyenne de 6 volontaires
└─┘



Les résultats montrent que l'absorption de la phénacétine varie fortement d'un individu à l'autre. Pour cette fraction testée, le taux plasmatique maximum se situe entre 90 et 120 minutes, ce qui correspond aux données de la littérature⁷⁶⁻⁷⁹. Les valeurs diminuent ensuite assez rapidement; elles sont même presque nulles après 4 heures chez un des volontaires.

IV.5.2 Capsules de phénacétine 315 - 400 μm sans adjuvant

Les résultats sont exprimés dans le tableau 29 et la figure 33 représente le taux plasmatique moyen des 6 volontaires après absorption de 3 capsules de phénacétine d'une granulométrie comprise entre 315 - 400 μm .

Tableau 29

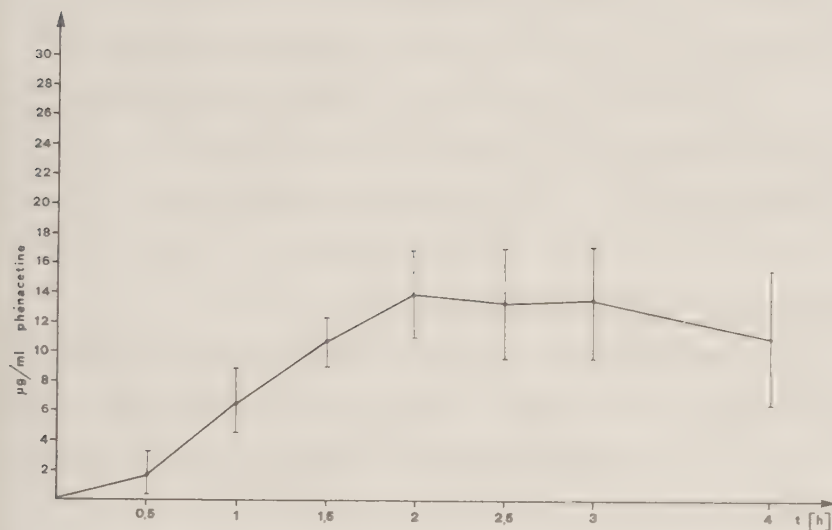
Nous plasmaïques [$\mu\text{g/ml}$] de phénacétine totale après administration orale de 3 capsules contenant chacune 290 mg de phénacétine 315 - 400 μm

Sujets	Sexe	Age	Poids [kg]	Temps de prélèvements [h]							
				0,5	1	1,5	2	2,5	3	4	
C.S.	F	28	47	1,39	5,66	8,67	12,72	11,56	11,79	9,83	
P.S.	M	27	71	2,08	5,55	8,67	8,09	6,36	6,94	5,20	
J.B.	F	39	57	0,58	2,66	7,86	13,87	14,80	15,95	16,53	
A.S.	F	30	54	0,00	5,78	9,83	13,29	12,14	12,37	9,48	
J.S.	M	27	70	0,00	5,20	9,83	10,17	10,17	9,83	6,13	
D.M.	F	42	58	2,43	8,67	11,79	15,03	15,26	15,03	11,21	

Figure 33

Taux plasmatiques après administration de 1 g de
phénacétine 315 - 400 μm

I
• écart-type par rapport à la
I moyenne de 6 volontaires



Nous constatons tout d'abord que les résultats sont un peu moins dispersés qu'avec la fraction 63 - 100 μm , surtout pendant les deux premières heures.

Par contre, les taux plasmatiques sont légèrement plus faibles qu'avec la petite fraction, la surface du principe actif favorisant sans doute, dans ce cas, l'absorption. Ce phénomène n'avait pas pu être mis en évidence dans les essais *in vitro* puisque la plus petite fraction présentait la moins bonne dissolution.

Il semble donc qu'*in vivo*, le caractère hydrophobe de la phénacétine soit moins gênant que dans les tests *in vitro*. La présence d'agents mouillants dans le suc gastrique facilite certainement sa mise en solution.

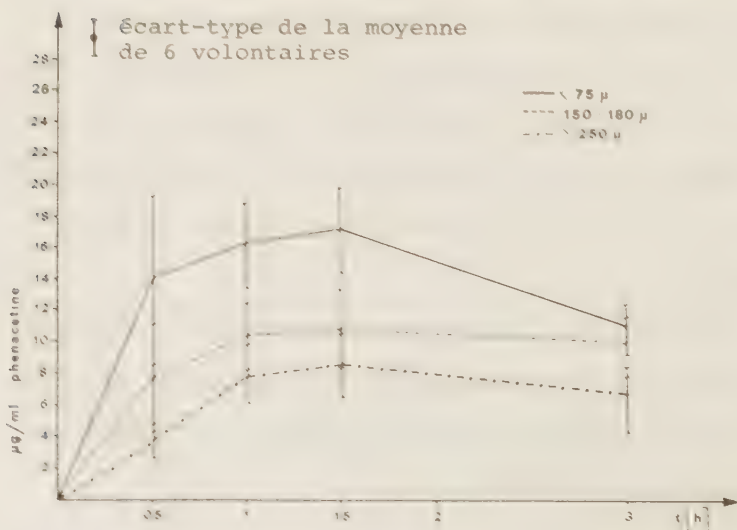
Avec cette fraction, on voit que la forme de la courbe n'est pas tout à fait la même que sur la figure 32. Les taux plasmatiques semblent diminuer moins vite qu'avec la petite fraction. Pour confirmer cette observation, il aurait fallu poursuivre l'expérience pendant quelques heures encore. La valeur maximale se situe également après deux heures.

On observe que par rapport aux résultats obtenus avec la fraction 63 - 100 μ m (tabl. 28) pour 4 volontaires, le maximum d'absorption (le pic maximum) apparaît plus tard. Pour 1 volontaire, il n'y a pas de changement et pour le dernier, le maximum est atteint plus vite.

Comparativement à nos résultats, nous reproduisons sur la figure 34 les courbes d'absorption obtenues après administration de 1,5 g de suspensions de phénacétine de 3 granulométries différentes, empruntées à Prescott, Steel et Ferrier⁹⁰.

Figure 34

Taux plasmatiques après absorption d'une suspension de 1,5 g de phénacétine (d'après Prescott et coll.⁹⁰)



IV.5.3 Capsules de phénacétine 315 - 400 μm contenant 20%
de lactose

,Avec cette 3ème formule, on n'obtient pas *in vivo* (tabl. 30, fig. 35) les différences observées *in vitro* par rapport aux formules sans lactose. Cet adjuvant ne semble pas avoir la même importance dans le processus de dissolution *in vivo*. L'augmentation, si elle est prouvée, est de toute façon très minime, donc pas comparable au phénomène observé *in vitro*.

Pour 3 volontaires, le maximum d'absorption est atteint après 2 heures et pour les 3 autres après 2 heures 30. Par rapport à la fraction 315 - 400 μm sans lactose, il n'y a pas de différence pour cette valeur maximale.

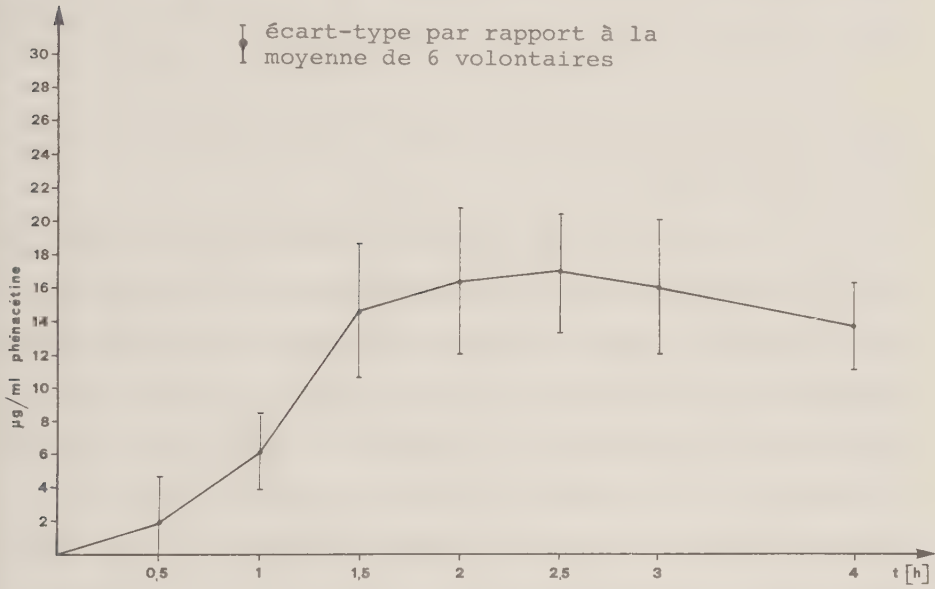
Tableau 30

Taux plasmatiques [$\mu\text{g/ml}$] de phénacétine totale après administration orale de 3 capsules contenant chacune 253 mg de phénacétine 315 - 400 μm et 63 mg de lactose (20%),

Sujets	Sexe	Age	Poids [kg]	T e m p s d e p r é l è v e m e n t s [h]						
				0,5	1	1,5	2	2,5	3	4
C.S.	F	28	47	0,00	2,08	9,25	13,06	12,14	10,98	9,02
P.S.	M	27	71	0,00	0,58	6,94	7,86	9,02	9,02	9,02
J.B.	F	39	57	2,20	6,59	12,95	15,03	14,68	14,45	11,56
A.S.	F	30	54	5,20	4,60	15,00	12,36	15,26	13,87	13,06
J.S.	M	27	70	1,16	3,47	10,40	10,40	11,33	9,60	8,67
D.M.	F	42	58	0,81	6,01	13,87	17,34	16,76	16,76	12,37

Figure 35

Taux plasmatiques après administration de 1 g de
phénacétine 315 - 400 μ m avec 20% de lactose



IV.6 Conclusions et interprétation statistique des résultats in vivo

La dispersion des résultats et les faibles variations observées entre les trois formules testées *in vivo* rendent les conclusions difficiles sans faire appel aux statistiques.

IV.6.1 Comparaison des taux plasmatiques par la méthode des différences

Les variations des taux plasmatiques d'un individu à l'autre sont très importantes par rapport aux différences entre formules, risquant ainsi de masquer l'effet de la granulométrie ou de la présence de lactose. Afin d'éliminer les fluctuations individuelles, on recourt à une nouvelle variable, la différence d observée pour chaque individu entre deux formules données; un test de Student effectué avec cette variable, permet d'évaluer le degré de signification de différence entre les trois formules (tabl. 31).

D'une manière générale, on ne constate pas de différence entre les trois formules au-delà de 2 heures et demie. Les fractions 63 - 100 μm et 315 - 400 μm (formules A et B) entraînent des taux sanguins différents, à 1, 1,5, 2 et 2,5 heures. Les mêmes observations sont faites avec les formules A et C, jusqu'à 2 heures. En revanche, l'adjonction de lactose (formules B et C) ne manifeste un rôle réel qu'à 1,5 heure. Il semble donc, pour le modèle étudié, que c'est la réduction de la granulométrie et non la présence d'adjuvant hydrophile qui influence le plus l'absorption de la phénacétine à partir de capsules de gélatine dures.

Tableau 31

Valeurs comparées de t pour les trois formules (cf. p. 128),
taux plasmatiques

Temps/h Formules	1	1,5	2	2,5	3
A-B	3,87 ***	2,85 ***	3,69 ***	2,28 **	1,25
B-C	1,36 •	2,96 ***	1,04 •	2,43 **	0,86
A-C	10,01 ***	3,09 ***	2,80 ***	1,44 •	0,68

Les astérisques indiquent le degré de significativité :

- *** très significatif ($\alpha = 0,05$)
- ** significatif ($\alpha = 0,10$)
- * peu significatif ($\alpha = 0,20$)
- non significatif ($\alpha = 0,20$)

IV.6.2 Comparaison des surfaces sous la courbe par la méthode des différences

Le calcul de la surface sous la courbe plasmatique peut apporter des indications intéressantes sur la biodisponibilité d'un principe actif, même si cette surface n'est pas toujours proportionnelle à la dose administrée, comme c'est le cas pour la phénacétine^{91,92}.

Le tableau 32 présente, pour les trois formules, les surfaces individuelles sous la courbe calculées, par la règle des trapèzes⁹³, entre 0 et 4 heures.

Tableau 32

Surfaces individuelles sous la courbe plasmétique

Formules	S.S.C. O → 4 h [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{h}$]						Moyenne $\pm$ écart-type
	A.S.	J.S.	D.M.	C.S.	P.S.	J.B.	
A	54,6	26,9	44,0	59,1	41,0	57,7	53,4 ($\pm$ 15,5)
B	34,5	24,1	43,5	33,8	23,2	40,1	38,9 ($\pm$ 11,0)
C	41,5	25,3	43,2	31,0	23,5	42,3	46,7 ($\pm$ 11,2)

La comparaison des résultats par la méthode des différences confirme les conclusions précédentes. La granulométrie (cf. formules A et B) joue un grand rôle ($t = 2,57$ ***); au contraire, l'adjonction de l'agent hydrophile (formules B et C) n'augmente pas la surface sous la courbe ($t = 1,37$ •).

V. Conclusions générales et résumé

Ce travail a été consacré à l'étude détaillée de facteurs influençant la libération de deux principes actifs peu solubles, la phénacétine et l'acétanilide, introduits dans des capsules de gélatine dures.

Après la description et la mise au point d'une méthode de dissolution automatique à flux continu, tous les résultats obtenus *in vitro* en étudiant successivement l'influence de chaque facteur sur la vitesse de libération sont discutés.

En premier lieu, l'étude de la granulométrie a permis de tirer certaines conclusions. *In vitro* et pour des principes actifs hydrophobes, la réduction de la taille des particules n'augmente pas systématiquement la vitesse de dissolution. Pour les deux substances testées, les meilleures libérations ont été obtenues avec des particules de taille moyenne, comprises entre 315 et 400 μm .

L'adjonction d'agents hydrophiles tels que le lactose ou le maltose introduits dans la capsule, accélère d'une façon remarquable la vitesse de libération des deux principes actifs testés mais supprime en partie les différences observées entre les grandeurs de particules. Plus le médicament est hydrophobe, plus la présence de l'agent hydrophile lui est favorable. La solubilité de ce dernier ne semble pas être un critère de choix.

La présence d'un tensio-actif (Tween^R 80) dans le milieu de dissolution en concentrations pré-micellaires a démontré que celui-là ne favorise pas la dissolution des petites particules mais plutôt les fractions moyennes et que son influence croît lorsqu'on augmente sa concentration, même au-delà de la CMC.

D'autre part, la présence simultanée d'un adjuvant hydrophile dans la capsule et d'un agent mouillant dans le milieu de dissolution supprime également les différences observées entre les grandeurs de particules. Par contre, le Tween^R 80 améliore la dissolution de la phénacétine si la concentration en lactose ne dépasse pas 2%.

Les résultats des dissolutions ont été exprimés ensuite sous forme linéaire grâce à la fonction RRSW. La variable dépendante est la valeur $T_{63,2\%}$ (temps nécessaire pour libérer 63,2% du principe actif); elle facilite la comparaison statistique des résultats.

Enfin, est mise en évidence l'influence simultanée du lactose et de la granulométrie de la phénacétine et de l'acétanilide sur la libération à l'aide d'une analyse de régression multiple et d'un modèle orthogonal à deux facteurs. Cette analyse a permis de confirmer statistiquement que l'importance de l'effet de plusieurs variables se manifeste différemment selon la nature du principe actif.

La dernière partie de cette étude est consacrée à des essais *in vivo* sur des volontaires. Malgré les difficultés analytiques et la dispersion des résultats, ces essais réalisés avec la phénacétine ont démontré que la réduction de la granulométrie, plus que la présence d'adjuvant hydrophile, influence favorablement la biodisponibilité de ce principe actif.

* * * * *

Bibliographie

1. *Van Herle L.*, Interpharma, 12-20 (1970).
2. *Czetsch-Lindenwald H. et Fahrige W.*, Arzneikapseln, Möglichkeiten-Herstellung-Verwendung, Editio Cantor, Aulendorf i. Württ., 1962.
3. *Wood J.H.*, J. Pharm. Sci. 54, 1207 (1965).
4. *Paikoff M. et Drumm G.*, J. Pharm. Sci. 54, 1693 (1965).
5. *Aguilar A.J., Zelmer J. et Kinkel A.*, J. Pharm. Sci. 56, 1243 (1967).
6. *Wagner J.G.*, J. Pharm. Sci. 50, 359 (1961).
7. "The National Formulary" 12e et 13 éd., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1975, p. 473.
8. *Aguilar A.J., Wheeler L.M., Fusari S. et Zelmer J.E.*, J. Pharm. Sci. 57, 1844 (1968).
9. *Withey R.J. et Mainville C.A.*, J. Pharm. Sci. 58, 1120 (1969).
10. *McDonald H., Pisano F. et coll.*, J. Clin. Med. 76, 30 (1969).
11. *Newton J.M. et Rowley G.*, J. Pharm. Pharmacol. 22, 163S (1970).
12. *Samyn J.C. et Jung W.Y.*, J. Pharm. Sci. 59, 169 (1970).
13. *Rowley G. et Newton J.M.*, J. Pharm. Pharmacol. 22, 966 (1970).
14. *Newton J.M., Rowley G. et V. Törnblom J-F.*, J. Pharm. Pharmacol. 23, 452 (1971).
15. *Newton J.M., Rowley G. et V. Törnblom J-F.*, J. Pharm. Pharmacol. 23, 156S (1971).
16. *Khalil S.A. et Ali L.M.M.*, Acta Pharm. Suec. 9, 563 (1972).
17. *Davies J.E. et Fell J.T.*, J. Pharm. Pharmacol. 25, 432 (1973).
18. *Newton J.M. et Razzo F.N.*, J. Pharm. Pharmacol. 26, 30P (1974).
19. *Caldwell H.*, J. Pharm. Sci. 63, 771 (1974).

20. *Bell S.P. et Fell J.T.*, Can. J. Pharm. Sci. 9, 119 (1974).
21. *Newton J.M. et Razzo F.N.*, J. Pharm. Pharmacol. 29, 205 (1977).
22. *Newton J.M. et Razzo F.N.*, J. Pharm. Pharmacol. 29, 294 (1977).
23. *Finholt P., Kristiansen H., Schmidt O.C. et Wold K.*, Meddelelser Fra Norsk Farmaceutisk Selstrap 28, 17 (1966).
24. *Hamlin W., Northam J.I. et Wagner J.G.*, J. Pharm. Sci. 54, 1651 (1965).
25. *Bau D.C. et Walker G.G.*, J. Pharm. Sci. 58, 611 (1969).
26. *Gibaldi M. et Feldman S.*, J. Pharm. Sci. 56, 1238 (1967).
27. *Poole J.W.*, Drug Inform. Bull. 8-16 (1969).
28. *Levy G et Hayes B.A.*, New England J. Med. 262, 1053 (1960).
29. "The United States Pharmacopeia" 18th rev., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1970.
30. British Pharmacopoeia, London, 1968, p. 1368.
31. *Pernarowski M., Woo W. et Searl R.O.*, J. Pharm. Sci. 57, 1419 (1968).
32. *Khalil S.A., Ali L.M. et Khalek A.M.*, J. Pharm. Pharmacol. 23, 125 (1971).
33. *Shepherd R.E., Price J.C. et Luzzi L.A.*, J. Pharm. Sci. 61, 1152 (1972).
34. *Goodhart F., McCoy R. et Ninger F.*, J. Pharm. Sci. 62, 304 (1973).
35. *Needham T.E. et Luzzi I.A.*, J. Pharm. Sci. 63, 925 (1974).
36. *Baum C. et Walker G.C.*, J. Pharm. Sci. 58, 611 (1969).
37. *Langenbucher F.*, J. Pharm. Sci. 58, 1265 (1969).
38. *Tingstad J.E. et Riegelman S.*, J. Pharm. Sci. 59, 692 (1970).
39. *Le Hir A.*, Abrégé de pharmacie galénique, Masson et Cie, Paris, 1974, p. 231.
40. *Dermanci M.A.*, thèse No 1664, Université de Genève, 1974.

41. *Kuhn Th.*, Le contrôle des capsules en gélatine, Bulletin d'information de Capsugel S.A., Bâle.
42. *Lilly S.A.*, Empty Capsules, Product description and technical Information.
43. *Tice L.F. et Moore A.W.*, J. Am. Pharm. Asssoc. 41, 631 (1952).
44. *Notton H.E.F.*, Pharm. J. 28, 69 (1956).
45. *Czetsch-Lindenwald H. et Tawashi R.*, Pharm. Ind. 27, 146 (1965).
46. *Jones B.*, Manuf. Chem. Aerosol News 40, 25 (1969).
47. *Czetsch-Lindenwald H.*, Pharm. Ind. 24, 110 (1962).
48. *Sandell E., Eriksson K. et Mellström G.*, Acta Pharm. Suec. 7, 559 (1970).
49. *Jones B.E. et Cole W.V.J.*, J. Pharm. Sci. 23, 438 (1971).
50. *Ritschel W.A.*, Angewandte Biopharmazie Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH, Stuttgart, 1973, p. 358.
51. Bulletin d'Information Capsugel S.A., 1970.
52. *Martin A.N., Swarbrick J. et Cammarata A.*, Physical Pharmacy, Lea & Febiger, Philadelphia, 1969.
53. *Jürgensen E.G.*, Acta Pharm. Suec. 10, 229 (1973).
54. *Wagner J.G.*, Biopharmaceutics 3, 198 (1969).
55. *Noyes A.A. et Whitney W.R.*, J. Am. Chem. Soc. 19, 930 (1897).
56. *Wagner J.G.*, J. Pharm. Sci. 58, 1253 (1969).
57. *Seeger P.*, Variance Analysis of complete Designs Upsaala, 1966.
58. *Sinay Y. et Tawashi R.*, Pharm. Acta Helv. 47, 265 (1972).
59. *Weintraub H. et Gibaldi M.*, J. Pharm. Sci. 58, 1368 (1969).
60. *Bates T.R., Gibaldi M. et Kanig J.L.*, J. Pharm. Sci. 55, 191 (1966).
61. *Bates T.R., Gibaldi M. et Kanig J.L.*, J. Pharm. Sci. 55, 901 (1966).

62. *Finholt P. et Solvang S.*, J. Pharm. Sci. 57, 1322 (1968).
63. *Lin S., Menig J. et Lachman L.*, J. Pharm. Sci. 57, 2143 (1968).
64. *Solvang S. et Finholt P.*, Meddelelser Fra Norsk Farmaceutisk Selskap 9, 101 (1969).
65. *Crevoisier C.*, Thèse No 1676, Université de Genève, 1974.
66. *Kakemi K., Arita T. et Muranishi S.*, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 13, 976 (1965).
67. *Behr M., Dietrich J., Mehta P.J., Reher D. et Sucker H.*, Pharm. Ind. 35, 210 (1973).
68. *Langenbucher F.*, J. Pharm. Pharmacol. 24, 979 (1972).
69. *Langenbucher F.*, Pharm. Ind. 38, 472 (1976).
70. *Rosin P., Rammler E. et Sperling K.*, Korngrößenprobleme des Kohlenstaubes und ihre Bedeutung für die Vermahlung, VID-Verlag, Berlin, 1933
71. *Gurny R.*, Thèse No 1754, Université de Genève, 1976.
72. *Czarnecki W., Hanken F. et Sucker H.*, Pharm. Ind. 37, 434 (1975).
73. *Linder A.*, Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner Ingenieure, Birkhäuser Verlag, Basel, Stuttgart, 1964, p. 147.
74. *Davies O.L.*, Design and Analysis of Industrial Experiments, Oliver and Boyd, 2ème éd., 1971, p. 495.
75. *Nie N.H., Hull C.H., Henkins J.G., Steinbrenner K. et Bent D.H.*, SPSS, 2ème éd., McGraw-Hill, New-York, 1975.
76. *Brodie B.B. et Axelrod J.*, J. Pharmacol. Exper. Therap. 94, 58 (1949).
77. *Jagenburg O.R. et Toczko K.*, Biochem. J. 92, 639 (1964).
78. *Prescott L.F., Sahsur M., Levin W. et Conney A.H.*, Clin. Pharmacol. Therap. 9, 605 (1968).
79. *Prescott L.F.*, Clin. Pharmacol. Therap. 10, 383 (1969).
80. *Brodie B.B. et Axelrod J.*, J. Pharm. Exp. Therap. 94, 22 (1948).

81. *Mattok G.L., McGilveray I.J. et Cook D., Can. J. Pharm. Sci. 6, 35 (1971).*
82. *Fooks J.R., Jordan N. et Cook D., Can. J. Pharm. Sci. 6, 38 (1971),*
83. *Raaflaub J. et Dubach V.C., Europ. J. Clin. Pharmacol 8, 261 (1975).*
84. *Routh J.I., Shane N.A., Arredondo E.G. et Paul W.D., Clin. Chem. 14, 882 (1968).*
85. *Prescott L.F., J. Pharm. Pharmacol. 23, 111 (1971).*
86. *Thomas B. et Coldwell B., J. Pharm. Pharmacol. 24, 243 (1972).*
87. *Wallace J.E., Biggs J., Hamilton H., Foster L. et Blum K., J. Pharm. Sci. 62, 599 (1973).*
88. *Jahn V., Reller J. et Schatz F., Arzneim.-Forsch. 23, 660 (1973).*
89. *Clarke E.G., Isolation and Identification of drugs in pharmaceuticals body fluids and post mortem material, The Pharmaceutical Press, London, 1969.*
90. *Prescott L.F., Steel R.F. et Ferrier W.R., Clin. Pharm. Therap. 11, 496 (1969).*
91. *Chiou W.L., J. Clin. Pharm. 14, 418 (1974).*
92. *Raaflaub J. et Dubach V.C., Europ. J. Clin. Pharmacol. 8, 261 (1975).*
93. *Ritschel W.A., Handbook of basic pharmacokinetics, 1st ed., Drug Intelligence Publications, INC., Hamilton, 1L 6234, 1976.*

* * * * *

